

Винахід відноситься до фармації, а саме до одержання біологічно-активних сполук з рослинної сировини, зокрема комплексу поліфенольних сполук з трави чини весняної, який проявляє протизапальну, кардіопротекторну та антиоксидантну дію.

Відомий спосіб одержання засобів, які мають гіпогікемічну активність [1]. Спосіб здійснюють шляхом екстракції трави квасолі 50% етиловим спиртом при співвідношенні 1:8-1:10, одержаний комплекс упарюють до 1/18-1/20 попереднього об'єму, водний залишок очищують спиртом з наступною обробкою хлористим метиленом.

До недоліків відомого способу можна віднести використання як екстрагенту хлористого метилена, який є токсичною речовиною, має температуру кипіння близько 40°C. Його використання потребує за технікою безпеки особливих умов. Згідно з вимогами ДФУ залишковий вміст хлористого метилена у субстанціях та готових лікарських засобах не повинен перевищувати 0,05%, що у 20 разів менше, ніж граничний вміст залишкових кількостей етилового спирту (граничний вміст етилового спирту - 1,0%) [2]. Для організації рентабельного виробництва хлористий метилен необхідно повертати до технологічного процесу, що вимагає додаткових виробничих площ, збільшення енерго- та інших матеріальних витрат.

Найближчим до заявленого способу є спосіб одержання біологічно активних сполук, що мають цукрознижувачу дію [3] з трави квасолі звичайної шляхом екстракції сировини водним етиловим спиртом при співвідношенні 1:2,5-1:3, упарювання комплексу до 1/10-1/11 попереднього об'єму, очищення кінцевого продукту етиловим спиртом з наступною сушкою.

Проте відомий спосіб дозволяє одержати комплекс біологічно-активних сполук лише з цукрознижувальною дією. До того ж задане співвідношення сировина: екстрагент імовірно не забезпечує вичерпної екстракції активних речовин.

Завданням винаходу є створення способу одержання поліфенольного комплексу рослинного походження з широким спектром фармакологічної дії, при якому шляхом спиртової екстракції трави чини весняної при заданих режимах, одержують поліфенольний комплекс з протизапальною, кардіопротекторною та антиоксидантною активністю при високому виході кінцевого продукту.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання комплексу поліфенольних сполук з протизапальною, кардіопротекторною та антиоксидантною дією шляхом екстракції рослинної сировини 50% етиловим спиртом, упарювання, обробки одержаного екстракту етиловим спиртом з наступним упарюванням і сушкою, передбачено, що в якості рослинної сировини використовують траву чини весняної, екстракцію проводять при співвідношенні сировина: етиловий спирт 1:7 протягом 48 годин, одержаний екстракт упарюють до 1/7-1/8 попереднього об'єму з наступною обробкою 96% етиловим спиртом при співвідношенні екстракт: етиловий спирт 1:1,5, відокремлюють осад, а надосадову рідину упарюють до 1/3 попереднього об'єму і висушують.

Послідовність прийомів та параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом.

Заявлене співвідношення сировина: екстрагент (1:7) та час проведення екстракції (48 годин) є оптимальними і забезпечують вичерпну екстракцію комплексу поліфенольних сполук з трави чини весняної.

Для видалення водорозчинних білків та полісахаридів з упареного екстракту останній обробляють 96% етиловим спиртом при співвідношенні 1:1,5. Відокремлення осаду з наступним упарюванням і сушкою над осадом рідини забезпечує належний рівень чистоти кінцевого продукту.

Винахід здійснюється наступним чином

Подрібнену повітряно-суху траву чини весняної, заготовленої у період цвітіння, піддають екстракції 50% етиловим спиртом при співвідношенні 1:7, одержаний комплекс упарюють до 1/7-1/8 об'єму, охолоджують до кімнатної температури. Упарений комплекс обробляють 96%-м етиловим спиртом при співвідношенні 1:1,5 і відокремлюють осад. Надосадову рідину упарюють до 1/5-1/6 попереднього об'єму і висушують. Вихід готового продукту 11,2%.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

4кг повітряно-сухої, подрібненої до розміру 1-2мм на вальцях трави чини весняної, заготованої в період цвітіння, екстрагували 28л 50% етилового спирту протягом 48 годин.

Отриманий спирто-водний комплекс (27л) упарювали під вакуумом до 3,5л, охолоджували до кімнатної температури (20°C) та обробляли упарений комплекс 96% етиловим спиртом (співвідношення 1:1,5), відділяли осад, надосадову рідину випарювали до водного залишку (до 1/3 об'єму), висушували у вакуум-сушильній шафі при температурі 70°C протягом 24 годин, подрібнювали у ступці. Отримали 450г світло-коричневого порошку - очищену суму поліфенольних сполук (вихід 11,2%).

Приклад 2

Вивчення протизапальної активності комплексу поліфенольних сполук з трави чини весняної, одержаного за заявленим способом (далі: комплексу) проводили на моделі карагенінового набряку стопи щурів. Ефект комплексу оцінювали за здатністю зменшувати набряк стопи щурів у порівнянні з групою контрольної патології.

Водний розчин комплексу вводили одноразово перорально за годину до введення карагеніну в дозах 1; 5; 10мг/кг маси тіла.

Як препарат порівняння було обрано диклофенак натрію.

Дослідних тварин було поділено на 5 груп:

- контрольна патологія;
- група тварин, яких лікували препаратом порівняння (диклофенак натрію);
- групи тварин, яких лікували комплексом чини в дозах 1; 5; 10мг/кг маси тіла.

Результати дослідів наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Протизапальна активність комплексу чини весняної в дозах 1-10мг/кг у порівнянні з диклофенаком натрію

№,	Умови дослідів	Протизапальна активність, %
----	----------------	-----------------------------

п/п		1 год	2 год	3 год	4 год	5 год	Середня активність
1.	Диклофенак натрію (8мг/кг)	38,4*	48,3*	51,8*	49,6*	42,0*	46,02
2.	Комплекс (1мг/кг)	27,6	31,8*	37,8*	38,2*	22,8	29,6
3.	Комплекс (5мг/кг)	39,7*	43,3*	40,1*	41,9*	28,6*	38,7
4.	Комплекс (10мг/кг)	53,4*	34,6	36,5*	31,5*	30,7*	37,34

Примітки: * - відхилення достовірне відносно контрольної патології ($p < 0,05$)

Аналіз даних таблиці 1 свідчить, що виражену протизапальну активність комплекс рослинного походження чинить в дозах 1,0; 5,0; і 10мг/кг та незначно поступається синтетичному препаратові порівняння. Комплекс в дозі 10мг/кг на першу годину експерименту перевищує активність диклофенаку натрію, а починаючи з другої години дещо йому поступається.

Приклад 3

Кардіопротекторну дію комплексу вивчали на моделі ізадринного міокардиту у мишей.

Кардіотоксичну дію ізадрину та протекторні властивості досліджуваного комплексу оцінювали за показниками функціонального стану міокарду (ЕКГ), активності цитолітичних процесів (за рівнем маркерного ферменту аспартатамінотрансферази (АсАТ)); ступінь проліферації та фіброзу тканин міокарду визначали за масовим коефіцієнтом серця (МКС). Визначали також показники інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в гомогенаті міокарду і сироватці крові (за рівнем ТБК-активних продуктів і вмісту відновленого глутатіону (GSH)).

Як препарат порівняння обрано гранули кверцетину.

Результати досліджень подано у таблиці 2.

Таблиця 2

Вивчення кардіопротекторних властивостей комплексу чини весняної на моделі ізадринного міокардиту у щурів у порівнянні з кверцетином

Показники	Групи			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Кверцетин, (5мг/кг)	Комплекс (5,0мг/кг)
Сироватка крові				
ТБК-активні продукти, ммоль/л	0,67±0,04	0,81±0,04*	0,83±0,07	0,63±0,08**
АСТ, ммоль/л-год	0,65±0,03	0,84±0,07*	0,90±0,08	0,75±0,06
Гомогенат міокарду				
ТБК-активні продукти, ммоль/л	44,56±3,52	79,30±5,82*	70,24±5,06*	57,84±3,25**
GSH, у.о.	9,27±1,65	4,65±1,10*	6,80±1,15	8,15±0,83**
ЕКГ				
ЧСС, уд./хв.	474,00±13,60	539,20±8,87*	509,00±8,60**	490,17±6,29**
R, мВ	0,64±0,07	0,55±0,11	0,70±0,03	0,53±0,13
Відхилення сегмента ST від ізолінії	0,052±0,015	0,11±0,02*	0,056±0,004	0,025±0,08**
Вживання, %				
%	100	70	Т 77,8	77,8
Масовий коефіцієнт серця				
(мс./мт.)x100	0,38±0,04	0,49±0,02*	0,44±0,02	0,42±0,01**

Примітки: 1. * - розходження достовірні відносно інтактного контролю, $P < 0,05$;

2. ** - розходження достовірні відносно контрольної патології, $P < 0,05$.

Аналіз даних таблиці 2 показує, що на фоні застосування комплексу спостерігалось пригнічення надмірного ПОЛ, про що свідчило достовірне підвищення рівня відновленого глутатіону, а також зниження вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові та у гомогенаті міокарду.

На рівні тенденції відзначене зниження активності в сироватці крові маркерного ферменту АсАТ, що свідчить про відновлення проникності клітинних мембран і попередження цитолізу.

Крім стабілізації біохімічних показників, при застосуванні комплексу в дозі 5мг/кг відзначена нормалізація показників ЕКГ: відновлення частоти серцевих скорочень (ЧСС) до рівня інтактного контролю, а також нівелювання відхилення сегменту ST щодо ізолінії, що свідчить про нормалізацію енергетичного обміну в ішемізованих тканинах міокарду.

Зважаючи на те, що на фоні застосування комплексу спостерігалось підвищення виживання тварин (до 77,8% проти 70% у контролі), а також достовірне зниження масового коефіцієнту серця, можна стверджувати, що комплекс у дозі 5мг/кг виявляє виражену кардіопротекторну дію. Даний ефект комплексу перевищував ефект препарату порівняння - гранул кверцетину.

Приклад 4

Антиоксидантну активність in vitro водного розчину комплексу оцінювали за сумарною антиокисною активністю (у розведенні 100мкг/мл) у модельній системі залізоіндукованого окиснення жовткових ліпопротеїдів. Як препарати порівняння використовували токоферол і кверцетин.

Результати дослідження наведено у таблиці 3.

Таблиця 3

Сумарна антиокисна активність комплексу

Сумарна антиокисна активність	
Концентрації комплексу та препаратів порівняння	Середня антиокисна активність, %
Комплекс, 100мкг/мл	50,1±5,8
Кверцетин, 2мкг/мл	56,3±3,6
Токоферол, 8мкг/мл	49,4±2,0

У результаті вивчення сумарної антиокисної активності встановлено, що комплекс у розведенні 100мкг/мл на 50,1% пригнічує залізоіндуковане вільнорадикальне окиснювання жовткових ліпопротеїдів, виявляючи антиокисну дію на рівні таких еталонних ендogenous антиоксидантів, як токоферол і кверцетин, що свідчить про виражену антиоксидантну активність комплексу.

Таким чином, заявлено спосіб одержання комплексу поліфенольних сполук з трави чини весняної з протизапальною, кардіопротекторною та антиоксидантною, який забезпечує високий вихід та належну чистоту кінцевого продукту. Заявлений спосіб простий у виконанні, не потребує дефіцитних або шкідливих реактивів і може бути здійснений на стандартному обладнанні фармацевтичних підприємств.

Комплекс поліфенольних сполук, одержаний за заявленим способом, проявляє широкий спектр фармакологічної активності і може бути використаний як діюча речовина лікарських засобів у різних лікарських формах (таблетки, гранули тощо.)

Джерела інформації:

1. Патент 48031, Україна. Спосіб отримання засобів, які мають гіпоглікемічну активність / МПК 6 А61К35/73, заявл. 30.03.1998. Опубл. 15.08.2002, Бюл. №8, 2002р.

2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е видання. - Харків: РІРЕГ, 2001, - С.306.

3. Патент 7005, Україна. Спосіб одержання комплексу біологічно-активних сполук, що мають цукрознижуючу дію / МПК А61К35/73, заявл. 04.01.1982. Опубл. 31.03.1995, Бюл. №1.