



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **20220** (13) **U**  
(51) МПК  
**A61K 36/73** (2006.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ З ПЕРЕВАЖНО ГЕМОСТАТИЧНОЮ ТА ДІУРЕТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ**

1

(21) u200607845  
(22) 13.07.2006  
(24) 15.01.2007  
(46) 15.01.2007, Бюл. №1, 2007р.  
(72) Волковой Валерій Аркадійович, Лук'янова Лариса Володимирівна, Ковальов Сергій Володимирович, Гісцева Ольга Аркадіївна  
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
(57) Спосіб одержання поліфенольного комплексу з переважно гемостатичною та діуретичною актив-

2

ністю, що включає екстракцію рослинної сировини 50% етанолом, упарювання, відокремлення осаду, обробку 95% етанолом, упарювання та сушіння надосадової рідини, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують пагони ожини сизої, екстракцію проводять при співвідношенні сировина : екстрагент 1:8-9, одержаний екстракт упарюють до видалення етанолу, відокремлений осад промивають водою, а одержану водну фракцію об'єднують з надосадовою рідиною до початку стадії упарювання останньої.

Корисна модель відноситься до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема, до способів одержання комплексів біологічно активних речовин з рослинної сировини, а саме поліфенольного комплексу з переважно кровоспинною та діуретичною активністю з пагонів ожини сизої.

Створення ефективних і нешкідливих препаратів з комплексною фармакологічною, зокрема гемостатичною та діуретичною дією є актуальним завданням сучасної фармації та медицини. Одним із шляхів вирішення даної проблеми є створення нових засобів, рослинного походження, яке здебільшого не мають побічних ефектів.

Відомий спосіб одержання протимікробного, кровоспинного та цитотоксичного засобу [Деклараційний патент 5 6771 А, Україна МПК7 А61К 35/78, заявл. 05.09.2002, опубл. 15.05.2003, Бюл. №5], який полягає у екстракції знежиреного хлороформом шроту з кори рослин роду вільха 70% етанолом методом дрібної мацерації при загальному співвідношенні сировина: екстрагент 1:10 - 1:15 з наступною фільтрацією та упарюванням одержаного сумарного екстракту.

До недоліків відомого способу можна віднести використання такого реактиву як хлороформ, що потребує використання додаткових засобів захисту персоналу, ускладнює технологічний процес та підвищує вартість одержаного засобу.

Відомий також спосіб одержання лікарського засобу з капіляррозміщувальною, мембраностабілізувальною та кровоспинною дією [Деклараційний

патент 58820А, Україна, МПК7 А61К 35/78, заявл. 05.11.2002, опубл. 15.08.2003, Бюл. №8] шляхом одержання водного настою з пагонів ожини сизої у співвідношенні 1:10.

Відомий спосіб простий у виконанні, проте одержаний за таким способом засіб має певні недоліки. По-перше, засіб необхідно готувати безпосередньо перед вживанням, бо одержаний водний настій не підлягає тривалому зберіганню, по-друге, засіб у такій лікарській формі не піддається точному дозуванню діючої речовини. Крім того, одержаний за відомим способом засіб має відносно вузький спектр фармакологічної дії.

Найближчим за сукупністю технологічних прийомів до заявленого способу є спосіб одержання комплексу поліфенольних сполук з протизапальною та кардіопротекторною дією [Деклараційний патент 69626А, Україна, заявл. 21.10.2003, опубл. 15.09.2004, Бюл. №9], який передбачає екстракцію 50% етиловим спиртом трави чини весняної при співвідношенні сировина: екстрагент 1:7 протягом 48 годин, упарювання одержаного екстракту до 1/7-1/8 попереднього об'єму, обробку упареного комплексу 96% етиловим спиртом при співвідношенні 1:1,5, відокремлення осаду упарювання надосадової рідини до 1/5-1/6 попереднього об'єму і сушку.

Проте наведений спосіб призначений лише для одержання засобу, який проявляє протизапальну, кардіопротекторну та антиоксидантну активність.

(13) **U**  
(11) **20220**  
(19) **UA**

Завданням корисної моделі є створення способу одержання поліфенольного комплексу з переважно гемостатичною та діуретичною дією, який шляхом екстракції пагонів ожини сизої при заданих параметрах способу дозволяє одержати засіб у формі сухого екстракту з вираженою фармакологічною дією, який може бути використаний як активна діюча речовина при створенні лікарських засобів у різних лікарських формах.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання поліфенольного комплексу з переважно кровоспинною та діуретичною активністю, який включає екстракцію рослинної сировини 50% етанолом, упарювання, відокремлення осаду, обробку 96% етанолом, упарювання та сушку надосадової рідини, згідно з корисною моделлю передбачено, що в якості рослинної сировини використовують пагони ожини сизої, екстракцію проводять при співвідношенні сировина і екстрагент 1:8-9, одержаний екстрагент упарюють до видалення етанолу, відокремлений осад промивають водою, а одержану водну фракцію об'єднують з надосадовою рідиною до початку стадії упарювання останньої.

Ожина сиза (*Rubus caesius*) родини розоцвітих (*Rosaceae*) - відома дикоросла і культурна плодово-ягідна рослина, досить поширена в Україні. Вегетативні органи ожини містять значну кількість дубильних речовин, вітаміну С, а також органічні кислоти, токоферолі, філохінони, похідні флавоноїдів, вітаміни К, Е, Р, F мінеральні речовини. Флавоноїдні сполуки здатні зменшувати проникність судинних стінок артеріол і капілярів, вітаміни Р і F - забезпечують еластичність кровоносних судин, збільшують їх стійкість.

Авторами досліджено, що до складу ожини сизої входять: сума флавоноїдів у перерахунок на рутин 1,38%, дубильних речовин 7,4%, що суттєво перевищує вміст БАР у більшості лікарських рослин з кровоспинною дією, наприклад гірчака перцевого.

Якщо використання пагонів ожини сизої у якості засобу з кровоспинною дією є відомим, то їх діуретична активність, виявлена авторами, не відома з доступних джерел інформації.

Експериментальним шляхом було визначено співвідношення сировини до екстрагенту як 1:8-9, яке забезпечує одержання засобу з заданою фармакологічною дією і відповідає технологічним вимогам практичного здійснення заявленого способу. Менша кількість екстрагенту не дозволяє ефективно провести екстракцію і створює складніші технологічного характеру при обробці великої кількості сировини, наприклад, закупорювання зливного отвору. Збільшення кількості екстрагенту нерационально, тому що вичерпна екстракція сировини забезпечується заявленою кількістю екстрагента.

Корисною моделлю передбачено додаткове промивання відокремленого осаду гарячою водою, що забезпечує вилучення з нього тієї частини поліфенольних сполук, які залишилися в осаді, причому, одержаний водний витяг об'єднують з надосадовою рідиною, яка містить цільовий продукт.

Таким чином підвищується продуктивність та економічність заявленого способу.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Висушені при температурі не вище 40°C пагони ожини сизої товщиною не більше 5,0мм, заготовлені у період з липня по вересень, подрібнюють, завантажують у екстрактор і заливають 50% етанолом у співвідношенні сировина : екстрагент 1:8-9. Екстракцію проводять методом перколяції. Одержаний екстракт упарюють до видалення етанолу, відстоюють, наприклад, 2-3 години при температурі 6-10°C і відокремлюють осад від надосадової рідини шляхом фільтрації. Осад, принаймні тричі, промивають водою, бажано 60-70°C для вилучення залишків поліфенольних сполук. Одержаний після промивання водний витяг об'єднують з надосадовою рідиною і обробляють рівною кількістю 95% етанолу з метою розділення речовин білкової та полісахаридної природи. Очищений спирто-водний екстракт упарюють до густого залишку і піддають сушці, бажано під вакуумом. Одержують гігроскопічний порошок ясно-брунатного кольору, розчинний у воді та нижчих спиртах. Вихід - 5,03% від повітряно-сухої сировини.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. Для одержання засобу у формі сухого екстракту за заявленим способом 1,0кг подрібнених пагонів ожини сизої екстрагували у перколяторі 8 літрами 50% етанолу. Одержані витяги упарили під вакуумом до видалення спирту і водний залишок (1л), залишили на 2 години при 6°C для відстоювання. Темно-зелений смолистий осад, що випав (10,02г), відокремили і промили гарячою 70°C водою 3 рази по 50мл. Осад відкинули, а водний витяг об'єднали з надосадовою рідиною і обробили рівною кількістю (1л) 95% етанолу з метою відділення речовин білкової і полісахаридної природи. Очищений спирто-водний розчин упарили до густого водного залишку (400мл) і висушили на вакуумно-ротаційному апараті. Одержали гігроскопічний порошок (50,02г) ясно-брунатного кольору, розчинний у воді і нижчих спиртах. Вихід склав 5,03% від маси повітряно-сухої сировини.

Приклад 2. Гемостатичну активність поліфенольного комплексу з пагонів ожини сизої, одержаного за заявленим способом, вивчали *in vitro*. Висновок про наявність гемостатичного ефекту робили за часом зсідання крові у порівнянні з контролем - фізіологічним розчином та препаратами порівняння. Досліди проводились за методом Альтаузена, який базується на визначенні часу появи перших ниток фібрину. Для цього на підігріте до температури 37°C предметне скло наносили каплю крові, яку брали з вушної вени морської свинки та краплю дослідного розчину. Через кожні 15-20сек. голкою проводили по краплі крові, фіксуючи появу першої нитки фібрину.

Дію засобу, одержаного за заявленим способом, вивчали в дозах 7, 12, 17мг/мл у порівнянні з дією препаратів порівняння - екстрактом грициків звичайних і 5% розчином амінокапронової кислоти.

Результати експерименту, оброблені методом варіаційної статистики, представлені в Таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення гемостатичної активності екстракту, одержаного за заявленим способом

Досліджені засоби	Доза, мг/мл	Час зсідання крові, сек.
Контроль (дистильована вода)	-	230,00±0,64
Засіб, одержаний за заявленим способом	7	108,00±1,02
	12	126,00±0,86
	17	142,00±0,63
Амінокапронова кислота	50	111,70±1,08
Екстракт грициків звичайних	7	156,00±1,38
	12	162,00±1,16
	17	180,00±1,19

Аналіз даних Таблиці 1 свідчить про те, що засіб, одержаний за заявленим способом, визиває активацію процесу зсідання крові та призводить до гіперкоагуляції, зменшуючи тромбіновий час. Найефективнішою дозою за гемостатичною активністю як нового засобу, так і екстракту грициків звичайних є 7мг/кг. У цій дозі засіб, одержаний за заявленим способом, перевищує препарати порівняння - амінокапронову кислоту в 1,03 рази, грицики звичайні в 1,44 рази.

Даний екстракт може бути використаний для лікування кровотеч.

Приклад 3. Вивчення діуретичної активності засобу, одержаного за заявленим способом, проводили у дослідях на безпородних білих щурах обох статей 200-280г за методом Е.Б.Берхіна. Дослідних тварин було поділено на 5 груп по 6 тварин у кожній: група 1 - контрольна; групи 2-4 - тварини, що одержували засіб, одержаний за заявленим способом, у дозах 10, 20, 30мг/кг; група 5 - тварини, що одержували препарат порівняння - фуросемід (ефективна доза - 20мг/кг). При вивченні водного діурезу тварин тримали на постійному харчовому раціоні при вільному доступі до води. Як їжу в цей період щурам давали лише зерна пшениці. До водного навантаження (3% від

маси тіла) тварин протягом 2-3 годин позбавляли їжі й води. Досліджувані речовини вводили перорально (внутрішньошлунково), у вигляді водних розчинів, стабілізованих твіном-80. Одночасно проводили контрольні дослідження на тваринах з аналогічним водно-харчовим раціоном, яким замість досліджуваних речовин вводили розчинник у еквівалентній кількості. Після цього тваринам у шлунок за допомогою зонду вводили водне навантаження в кількості 3% від маси тіла щурів. Відразу ж після водного навантаження щурів поміщали в індивідуальні клітки, пристосовані для збору сечі. Кількість сечі враховували щогодини на протязі 4 годин. Кількість сечі, виділеної контрольною групою тварин, приймали за 100%.

Розрахунок робили за наступною формулою:

$$ДА = \frac{V_0 \cdot 100\%}{V_k}, \text{ де}$$

ДА - діуретична активність в %;

$V_0$  - об'єм сечі, виділеної тваринами дослідної групи, мл;

$V_k$  - об'єм сечі, виділеної тваринами контрольної групи, мл.

Результати дослідження представлені у Таблиці 2.

Таблиця 2

Вивчення діуретичної активності засобу, одержаного за заявленим способом

Досліджувані засоби	Доза, мг/кг	Діурез за 4 години, мл/100г (M±m)	Активність до контролю, %
Контроль	-	2,88±0,8	100,00
Засіб, одержаний за заявленим способом	10	3,53±0,55	122,60
	20	3,30±0,71	114,60
	30	4,26±0,51	147,90
Фуросемід	20	3,75±1,14	130,20

Дані Таблиці 2 свідчать, що найбільш активну діуретичну дію має засіб, одержаний за заявленим способом, в дозі 30мг/кг, який збільшував діурез через 4 години на 47,9% у порівнянні з контролем, та на 17,7% - з фуросемідом.

Найбільш перспективною дозою для подальшого вивчення засобу, одержаного за заявленим способом як діуретичного засобу є 30мг/кг.

Додаткові дослідження, проведені авторами, виявили помірні протизапальну, аналгетичну та

жарознижуючу активності засобу, одержаного за заявленим способом.

Таким чином, заявлений новий спосіб одержання з пагонів ожини сизої поліфенольного комплексу з переважно кровоспинною і діуретичною активністю та супутньою комплексною фармакологічною дією: протизапальною, аналгетичною, жарознижуючою. Засіб, одержаний за заявленим способом, є нетоксичним, без побічних дій, прида-

тним до тривалого застосування, насамперед, при профілактиці та лікуванні кровотеч різного ґенезу.

Заявлений спосіб може бути здійснений в умовах стандартного фармацевтичного підприєм-

ства, з використанням стандартного обладнання та екологічно безпечних реактивів. Спосіб передбачає використання доступної вітчизняної рослинної сировини.