



УКРАЇНА

(19) UA (11) 58719 (13) U
(51) МПК
A61K 36/48 (2011.01)
A61P 7/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ДІУРЕТИЧНОЮ ТА АНАБОЛІЧНОЮ АКТИВНІСТЮ

1

(21) u201010982
(22) 13.09.2010
(24) 26.04.2011
(46) 26.04.2011, Бюл.№ 8, 2011 р.
(72) ЧЕРКАШИНА АЛІНА ВІКТОРІВНА, КОВАЛЬОВ
ВОЛОДИМИР МИКОЛАЙОВИЧ, ДЕРКАЧ НАТАЛІЯ
ВОЛОДИМИРІВНА, КОВАЛЬОВ СЕРГІЙ ВОЛО-
ДИМИРОВИЧ
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ
(57) Спосіб одержання комплексу біологічно акти-
вних речовин з діуретичною та анаболічною акти-

2

вністю шляхом двократної екстракції подрібненої
рослинної сировини водою при температурі 85-
90°C з подальшим об'єднанням відфільтрованих
екстрактів, їх упарюванням та сушінням, який **від-
різняється** тим, що як рослинну сировину викори-
стовують траву нуту звичайного (*Cicer arietinum*
L.), першу екстракцію проводять при співвідно-
шенні сировина:екстрагент 1:12 протягом 2,0 го-
дин, другу - при співвідношенні 1:10 протягом 1,0
години.

Корисна модель відноситься до фармації та
медицини, а саме до способів одержання засобів
рослинного походження, зокрема комплексу біоло-
гічно активних речовин з діуретичною та анаболіч-
ною активністю, який може бути використаний в
якості активної субстанції при створенні лікарських
препаратів для лікування та профілактики захво-
рювань сечовидільної системи.

Терапія урологічних захворювань передбачає
тривале застосування лікувальних засобів. У цьо-
му випадку доцільне використання препаратів ро-
слинного походження, які, на відміну від синтетич-
них, практично не мають побічної дії, як правило
не викликають алергічної реакції, є не токсичними і
придатними до тривалого застосування без фор-
мування залежності. Сучасний ринок діуретичних
засобів представлений переважно препаратами
синтетичного походження. Перелік препаратів ро-
слинного походження досить обмежений. Тому
проблеми створення нового комплексу біологічно
активних речовин з діуретичною активністю є дос-
татньо актуальною.

Існують різні способи одержання з рослинної
сировини комплексу біологічно активних речовин,
які мають діуретичну дію у комплексі з іншими ви-
дами фармакологічної активності.

Відомий спосіб одержання діуретичного засо-
бу з надземної частини грінделії розчепіреної [1]
шляхом екстрагування сировини 50% спиртом

етилловим при співвідношенні сировина:екстрагент
1:10 з подальшим упарюванням до водного зали-
шку, осадженням хлороформом та сушкою. Вихід
готового продукту становить 14,68%.

До недоліків зазначеного способу можна від-
нести значні витрати і високу концентрацію екстра-
гента, а також необхідність проведення додаткової
обробки упареного екстракту хлороформом [1].

Відомий спосіб одержання засобу з протиза-
пальною та анаболічною активністю [2] листя ев-
каліпту водою при співвідношенні сирови-
на:екстрагент 1:3-1:9 при температурі 90-100°C
протягом 1,5-2 годин з подальшим настоюванням
протягом 11-12 годин, фільтрацією та упарюван-
ням одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22
попереднього об'єму, очищенням шляхом відсто-
ювання надосадової рідини, яку піддають стерилі-
зації.

До недоліків відомого способу можна віднести
використання сировини, яка не культивується в
Україні. Крім того, кінцевий продукт не проявляє
діуретичну дію [2].

Найближчим до заявленого способу за сукуп-
ністю ознак є спосіб одержання біологічно активної
субстанції з трави сої щетинистої з анаболічною
дією [3], який передбачає двоступеневу екстракцію
рослинної сировини гарячою водою при постійно
підтримуваній температурі 100-105°C при співвід-
ношенні сировина:екстрагент 1:39-1:41 протягом 2

(19) UA (11) 58719 (13) U

та 0,5 годин відповідно з подальшою фільтрацією та упарюванням об'єднаних екстрактів до густої консистенції з вмістом сухого залишку 65-75%. Загальний вихід екстрактивних речовин 32,44% від повітряно-сухої сировини.

Вищезазначений спосіб не дозволяє одержати комплекс біологічно активних речовин з комплексною діуретичною та анаболічною активністю [3].

Завданням корисної моделі є створення нового способу одержання комплексу біологічно активних речовин з діуретичною та анаболічною активністю, який завдяки використанню в якості сировини трави нуту звичайного і проведення процесу при заданих параметрах забезпечує одержання ефективного засобу у формі сухого рослинного екстракту з вираженою фармакологічною активністю, обумовленою комплексом біологічно активних речовин, вилучених саме таким способом, а заявлений спосіб є простим і економічно доцільним при промисловому здійсненні.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання комплексу біологічно активних речовин з діуретичною та анаболічною активністю шляхом двократної екстракції подрібненої рослинної сировини водою при температурі 85-90°C з подальшим об'єднанням відфільтрованих екстрактів, упарюванням та сушкою, згідно з корисною моделлю, передбачено, що в якості рослинної сировини використовують, траву нуту звичайного (*Cicer arietinum* L.), першу екстракцію здійснюють при співвідношенні сировина:екстрагент 1:12 протягом 2,0 годин, другу - 1:10 протягом 1,0 години при температурі 85-90°C з подальшим упарюванням екстракту до сухого залишку.

Всі параметри заявленого способу визначено експериментальним шляхом з урахуванням біологічної активності одержаних комплексів, ефективності, доступності та нешкідливості реактивів, практичного відтворення способу у промислових умовах.

Дослідним шляхом було визначено, що оптимальним екстрагентом для трави нуту звичайного є вода. Саме такий екстрагент у сукупності з рештою параметрів заявленого способу, а саме двократною екстракцією сировини при загальному співвідношенні сировини до екстрагента 1:22 і тривалості першої екстракції - 2 години, другої - 1 годину при постійно підтримуваній температурі 85-90°C забезпечує інтенсифікування процесу екстрагування, що дозволяє максимально вилучати з сировини комплекс БАР, який має діуретичну та анаболічну дію. Крім того, такий екстрагент вигідний з боку технологічних вимог до здійснення способу, бо є доступним, дешевим та екологічно безпечним.

Сумарне співвідношення сировини до екстрагента 1:22 встановлено експериментально та є оптимальним для вибраної сировини. Перший етап екстракції здійснюють при співвідношенні сировина:екстрагент 1:12 (з урахування коефіцієнту водопоглинання сировини, $K=0,19$), другий - при співвідношенні 1:10. Менша кількість екстрагенту на кожному етапі не дозволяє ефективно провести екстракцію, а більша кількість є нерациональною,

тому, що повна екстракція досягається заявленою кількістю екстрагента.

Загальна тривалість усіх етапів екстракції складає 3,0 години і є достатньою для вичерпного вилучення з сировини комплексу біологічно активних сполук з діуретичною та анаболічною активністю.

В результаті здійснення заявленого способу одержують комплекс БАР - порошок світло-коричневого кольору зі специфічним запахом, гіркуватий на смак, добре розчинний у воді, практично не розчинний в ефірі та хлороформі.

Авторами вперше запропоновано використання трави нуту для одержання комплексу біологічно активних сполук з діуретичною та анаболічною активністю. Заявлений спосіб є новим, невідомим з джерел інформації і здійснюється наступним чином. Висушену і подрібнену траву нуту звичайного піддають двократній екстракції гарячою водою при загальному співвідношенні сировина:екстрагент 1:22 та загальній тривалості екстракції - 3 години при температурі 85-90°C. Першу екстракцію здійснюють при співвідношенні сировина:екстрагент 1:12 протягом 2,0 годин, другу - 1:10 протягом 1,0 години. Одержані водні екстракти об'єднують, відфільтровують, упарюють та висушують. Сухий екстракт подрібнюють. Вихід готового продукту становить 25,5-26,0% від повітряно-сухої сировини.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1

1,0 кг подрібненої повітряно-сухої трави нуту звичайного заливають 11,9 л гарячої води і екстрагують при перемішуванні та постійно підтримуваній температурі 85°C протягом 2,0 годин. Екстракцію повторюють 10,0 л води протягом 1 години. Одержані екстракти 9,8 л та 7,9 л відповідно, об'єднують, відфільтровують та упарюють до повного висушування. Сухий екстракт подрібнюють. Вихід сухого екстракту становить 257,0 г, тобто 25,7%.

Приклад 2

Вивчення діуретичної активності комплексу БАР одержаного за заявленим способом, проводили на білих нелінійних щурах чоловічої та жіночої статі масою 120-220 г у дослідах за методом Є.Б. Берхіна [4].

Досліджуваний екстракт у вигляді водного розчину та препарат порівняння - настій листя ортосифону тичинкового, вводили перорально внутрішньошлунково у дозі 150 мг/кг та 40 мг/кг відповідно. Усі тварини одержували водне навантаження через шлунковий зонд, яке складало 3% від маси тіла тварини. Після ведення речовин тварин поміщали в «обмінні клітки» для збору сечі та реєстрували діурез через 4 години.

За показник інтенсивності сечовиділення приймали кількість сечі, виділеної твариною за 4 години у перерахунку на 100 г їх маси. Кількість сечі, виділену контрольною групою, що одержувала тільки водне навантаження, приймали за 100%.

Діуретичну активність розраховували за формулою:

$$A = \frac{V_{\text{досл.}} \times 100}{V_{\text{контр.}}} - 100\%, \text{ де}$$

A - діуретична активність, %;
 $V_{\text{досл.}}$ - середній об'єм сечі, виділений досліджуваною групою тварин, мл/100 г;

$V_{\text{контр.}}$ - середній об'єм сечі, виділений контрольною групою тварин, мл/100 г.

Результати експерименту наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення діуретичної активності комплексу БАР трави нуту звичайного, одержаного за заявленим способом

Досліджуваний зразок	Об'єм сечі, мл	Об'єм сечі, мл/100 г маси	Діуретична активність, %
Комплекс БАР трави нуту звичайного, 150 мг/кг	4,78±0,3	3,57±0,4	58,7*
Настій листя ортосифону тичинкового, 40 мг/кг	4,04±0,4	3,17±0,5	40,8*
Контроль	2,77±0,3	2,25±0,4	-

Примітка: * $p \leq 0,05$ достовірність результатів по відношенню до контролю

Аналіз результатів дослідження свідчить, що комплекс біологічно активних речовин трави нуту звичайного достовірно збільшує сечовиділення і становить 58,7%.

Приклад 3

Вивчення анаболічної активності комплексу БАР трави нуту звичайного, одержаного за заявленим способом, проводили на моделі примусового плавання з навантаженням на статеву незрілих щурах [5]. Як інтегральні критерії анаболічної дії було обрано: приріст загальної маси тіла та гомілкового м'язу дослідних тварин по відношенню до інтактного контролю, вміст загального білка у тканинах внутрішніх органів та гомілковому м'язі, вміст сечовини у сироватці крові та сечі.

Досліди проводилися на білих нелінійних щурах масою 60,0±5,0 г. Тварин поділили на 3 групи та протягом всього досліду (28 днів) утримували в умовах віварію на традиційному водно-харчовому

раціоні. Групи тварин, характеризувалися таким чином: 1 група - інтактний контроль; 2 - тварини, що одержували комплекс БАР трави нуту звичайного, одержаний за заявленим способом, у дозі 150 мг/кг; 3 - тварини, що одержували препарат порівняння, а саме калію оротат у дозі 100 мг/кг.

На 28-му добу від початку експерименту всіх тварин зважували та виводили з експерименту шляхом декапітації під тіопентаноловим наркозом, після чого препарували та визначали масу серця та литкового м'язу. Основні біохімічні показники білкового обміну визначали за допомогою стандартних діагностичних наборів: загальний білок крові - біуретовим методом, рівень сечовини в сироватці крові та сечі за допомогою тест-набора Biotest, UREA 450, загальний білок у тканинах - методом Лоурі у модифікації Міллера.

Результати дослідження наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Вивчення анаболічної активності комплексу БАР трави нуту звичайного, одержаного за заявленим способом

Досліджуваний показник	Умови експерименту		
	Інтактний контроль	Комплекс БАР трави нуту звичайного, 150 мг/кг	Калію оротат, 100 мг/кг
Маса тіла тварин на початку досліджень, г	86,4±0,71	89,9±1,41	87,2±1,30
Маса тіла тварин наприкінці досліджень, г	107,1±2,1	124,2±3,1	117,3±2,13
Приріст маси тіла, г	20,7±1,4	34,4±2,1*	30,1±2,2*
Збільшення маси тіла стосовно контролю, %	-	65,7	45,4
Кількість білка у литковому м'язі, мг/100 мг тканини	54,0±2,0	79,0±11,0*	65,3±4,7*
Кількість білка у серцевому м'язі, мг/100 мг тканини	48,0±4,0	73,6±6,0*	79,7±3,4*
Сечовина у сироватці крові, ммоль/л	7,51±1,7	6,3±1,7*	6,9±2,2
Сечовина у сечі, ммоль/л	106,9±2,3	80,0±3,5*	95,8±1,9

Примітка: * $p \leq 0,05$, відхилення вірогідне по відношенню до контролю.

Одержані результати свідчать, що 28-денне застосування одержаного за заявленим способом комплексу БАР трави нуту звичайного на моделі примусового плавання з вантажем у дозі 150 мг/кг викликає виражений анаболічний ефект, який виявляється у достовірному збільшенні маси литкового м'язу і вмісту рівня білка в тканинах м'язу та серці. Під впливом досліджуваного засобу відмічається зниження вмісту сечовини у сироватці крові та у сечі по відношенню до контролю та препарату порівняння, що не прямо свідчить про стимуляцію

білковосинтетичних процесів в організмі та підтверджує анаболічну активність.

Ерготропний вплив досліджуваного комплексу БАР трави нуту звичайного оцінювали по здатності зменшувати час стомлюваності щурів. Експеримент проводили на 11 і 28 день перед введенням досліджуваних речовин (вихідні дані). Вантаж, 7,5% від маси тіла, прикріплювали до основи хвоста щурів за допомогою гумового кільця [5].

Результати дослідження наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

Вивчення ерготропної дії комплексу БАР трави нуту звичайного, одержаного за заявленим способом

Об'єкт дослідження	Вихідні дані, (с)	Фізична витривалість	
		11 день	28 день
Інтактні тварини	152,1±19,7	150,7±20,1	150,7±20,1
Екстракт трави нуту 150 мг/кг	151,7±18,3	178,9±19,7	188,7±23,7*
Калію оротат, 100 мг/кг	150,9±20,3	175,9±21,2	190,9±17,4*

Примітка: * $p \leq 0,05$, відхилення вірогідне по відношенню до контролю.

Аналіз даних таблиці 3 свідчить, що комплекс БАР трави нуту звичайного, одержаний за заявленим способом, проявляє помірну ерготропну дію на рівні з препаратом порівняння.

Таким чином, заявлено спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин рослинного походження з вираженою діуретичною та анаболічною активністю. Спосіб є простим у відтворенні, економічним, екологічно безпечним та може бути здійснений в умовах промислового виробництва з використанням стандартного обладнання.

Екстракт, одержаний за заявленим способом, проявляє виражену діуретичну та анаболічну активність, є ефективним, нетоксичним, практично не має протипоказань і є перспективним для створення нових лікарських засобів для лікування та профілактики захворювань сечовидільної системи.

Джерела інформації:

1. Патент на винахід 74465, Україна, МПК(2006) А61К 36/00, А61Р 7/16, з.

№2004021134, заявл. 17.02.2004, опубл. 15.12.2005, бюл. №12.

2. Патент на корисну модель 14493, Україна, МПК(2006) А61К 36/61 (2007.01), А61К 127/00 (2007.01), А61К 9/14. Спосіб одержання засобу з протизапальною та анаболічною активністю. Заявка u200511277, заявл. 28.11.2005, опубл. 15.05.2006, Бюл. №5.

3. Патент на корисну модель 33401, Україна, МПК(2006) А61К 36/48 (2008.01). Спосіб одержання біологічно активної субстанції рослинного походження з анаболічною дією. Заявка u200800470, заявл. 14.01.2008, опубл. 25.06.2008, Бюл. №12.

4. Берхин Е.Б. Методы изучения новых химических соединений на функции почек // Хим. - фарм. журнал. - 1997. - Т. 11, №5 - с. 3-11.

5. Експериментальне вивчення нових анаболічних засобів: Методичні рекомендації / Л.Я. Яковлева, С.М. Марчишин та ін. - Київ, 2007. - 31 с.