



УКРАЇНА

(19) UA (11) 59681 (13) A

(51) 7 A61K35/78

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ "ФЛАВІТИН" З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ, АНАЛЬГЕТИЧНОЮ, ПРОТИВИРАЗКОВОЮ ТА АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ

1

2

(21) 2002119121

(22) 15 11 2002

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Кисличенко Вікторія Сергіївна, Адель Ахмад Халиль, ЮО, Кузнецова Вікторія Юрївна, Вороніна Лариса Миколаївна, Король Вікторія Вікторівна, Набока Ольга Іванівна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб одержання поліфенольного комплексу з протизапальною, анальгетичною, противиразково-

вою та антиоксидантною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини при співвідношенні сировина екстрагент 1 : 10, який відрізняється тим, що як рослинну сировину використовують листя винограду, краще сорту Дабуги, екстракцію проводять 50 % спиртом етиловим з подальшим упарюванням до водного залишку, фільтрацією, ресорбцією фенольних сполук з осаду водою, об'єднанням фільтрату з одержаним водним розчином, упарюванням і сушінням

Винахід відноситься до фармації, зокрема до способів одержання комплексів біологічно активних речовин з лікарської сировини, а саме поліфенольного комплексу з листя винограду, краще сорту Дабуги, з вираженою протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною дією, і може бути використаний як активна діюча речовина лікарських засобів комплексної дії.

Запальний процес, а також болісний синдром, що його супроводжує, є супутниками великої кількості хвороб. До того ж для багатьох хворих характерна наявність сукупності різних хвороб, які потребують комплексного лікування. З підвищенням несприятливого екологічного стану довкілля, підвищенням алергізації населення виникла тенденція до більш поширеного використання препаратів рослинного походження.

Відомий спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин, що має гепатопротекторну дію [Патент 30879A, Україна, А61К 38/43, А61К 9/20, заявл. 16 06 1998р., опубл. 15 12 2000р. Бюл. №7], який полягає у екстракції трави гороху посівного етанолом, упарюванні екстракту до водного залишку з подальшим очищенням хлористим метанолом.

Продукт, одержаний зазначеним способом, має моноспрямовану фармакологічну активність і не може розглядатися як препарат комплексної дії.

Відомий також спосіб одержання фенольних сполук, які проявляють гепатозахисну активність

[Патент 20932A, Україна, А61К 31/05, А61К 35/78, заявл. 27 10 1993р., опубл. 27 02 1998р. Бюл. №1]. Спосіб здійснюють шляхом екстракції подрібнених пагонів карагани деревовидної гарячою водою при співвідношенні сировина екстрагент 1 : 10 протягом 40-50 хвилин при температурі 90°C з наступним настоюванням протягом 10 хвилин.

Як і у попередньому випадку засіб, одержаний за даним способом, має переважно гепатозахисну активність, тобто не має комплексної фармакологічної дії.

Завданням винаходу є створення способу одержання поліфенольного комплексу з листя винограду, краще сорту Дабуги, при здійсненні якого одержують цільовий продукт з вираженою протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що в способі одержання поліфенольного комплексу з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини при співвідношенні сировина екстрагент 1 : 10 додатково передбачено, що у якості рослинної сировини використовують листя винограду, краще сорту Дабуги, екстракцію проводять 50% спиртом етиловим з подальшим упарюванням до водного залишку, фільтрацією, ресорбцією фенольних сполук з осаду водою, об'єднанням фільтрату з одержаним водним розчином, упарюванням і сушкою.

(13) A
59681 (11)
UA (19)

Параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом і обумовлюють одержання поліфенольного комплексу "Флавитин" з високою фармакологічною дією

Для заявленого способу характерні економічність, безпечність, високий вихід цільового продукту, простота відтворення у стандартних виробничих умовах фармацевтичних підприємств

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином: подрібнену сировину (листя винограду, краще сорту Дабуги) піддають екстракції 50% спиртом етиловим при співвідношенні сировина і 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

Одержаний поліфенольний комплекс являє собою порошок темно-брунатого кольору, кисло-ватого смаку з характерним специфічним запахом. Розчиняється у воді, 50% спирті етиловому, погано розчиняється у етиловому ефірі та хлороформі

Винахід ілюструється прикладами

Приклад 1

1200г листя винограду сорту Дабуги подрібнювали до розміру часток 2-3мм і піддавали екстрак-

ції 50% спиртом етиловим при співвідношенні сировина екстрагент 1:10. Одержаний екстракт упарювали до 0,7л водного залишку з видаленням конденсату спирту етилового і відстоювали протягом 5 годин. Осад відфільтровували і обробляли 0,2л води для ресорбції фенольних сполук. Фільтрат поєднували з одержаним водним розчином фенольних сполук, упарювали і піддавали сушці. Одержаний вихід сухого екстракту 15,8% при вологості 4,3%

Приклад 2

Вивчення протизапальної дії поліфенольного комплексу "Флавитин" проводили на моделі гострого карагенінового запалення задньої кінцівки неплісних білих щурів різної статі вагою 140-200г

Запалення викликали субплантарним введенням 1% розчину карагеніну в об'ємі 0,1мл в одну із кінцівок білих щурів. Дослідний комплекс "Флавитин" вводили у шлунок однократно у вигляді водного розчину за 0,5 годин до моделювання запалення в дозах 25, 50 і 100мг/кг

В якості препарату порівняння використовували вольтарен ($ED_{50}=8\text{мг/кг}$)

Показником протизапальної дії вибрано ступінь пригнічення набряку стопи задньої кінцівки щурів

Результати дослідів наведено у таблиці 1

Таблиця 1

Протизапальна активність поліфенольного комплексу "Флавитин"

Умови дослідів	Доза, мг/кг	Збільшення об'єму стопи через 4 години ($M \pm t$)	Пригнічення запального набряку, % від контролю
Поліфенольний комплекс "Флавитин"	25	$2,9 \pm 1,8^x$	35,6
	50	$4,0 \pm 0,35$	11,2
	100	$2,3 \pm 0,2^x$	48,9
Вольтарен	8	$2,2 \pm 0,21^x$	51,1
Контроль	-	$4,5 \pm 0,18$	-

Примітка ^x - по відношенню до контролю при $p < 0,05$

Оцінка одержаних результатів показує, що поліфенольний комплекс "Флавитин" має виражену протизапальну активність. Дані по використанню субстанції "Флавитин" в дозах 25, 50 і 100мг/кг свідчать про наявність протизапальної активності різного ступеню вираженості, яка знаходиться в межах 11,2-48,9%. Найбільш виражена протизапальна активність "Флавитину" в дозі 100мг/кг і складає 48,9%, що практично дорівнює активності вольтарену

Приклад 3

Анальгетичну активність "Флавитину" вивчали у дослідях на неплісних білих щурах вагою 140-200г на моделі оцтовокислих судом

Синдром болю відтворювали внутрішньочеревинним введенням 0,75% розчину оцтової кислоти із розрахунку 1 мл на 100г маси щурів. За тваринами спостерігали протягом 30 хвилин і підраховували за цей проміжок часу кількість "судом", які супроводжувалися витягуванням задніх кінцівок та вигинанням спини. Препаратом порівняння був анальпін ($ED_{50}=50\text{мг/кг}$)

Критерієм анальгетичної активності було вибрано зменшення кількості судом у піддослідних тварин

Результати проведених досліджень на наявність анальгетичної дії досліджуваного поліфенольного комплексу "Флавитин" наведено у таблиці 2

Таблиця 2

Анальгетична активність поліфенольного комплексу "Флавитин"

Умови дослідів	Доза, мг/кг	Кількість "судом" за 30 хвилин ($M \pm m$)	Пригнічення больового подразнення, % від контролю
Поліфенольний комплекс "Флавитин"	25	$34,2 \pm 5,0^x$	43,4
	50	$26,4 \pm 5,2^x$	56,3
	100	$31,2 \pm 5,1^x$	48,3
Анальгін	50	$31,4 \pm 5,4^x$	48,0
Контроль	-	$60,4 \pm 6,2$	-

Примітка ^x - по відношенню до контролю при $p < 0,05$

Анальгетична активність "Флавитину" у дозі 100мг/кг дорівнює активності анальгину, а в дозі 50мг/кг - перевищує його активність

Приклад 4

Вивчення протизапальної активності "Флавитину" у дозі 50мг/кг проводили на нелінійних щурах масою 130-180г, використовували модель гострого експериментального ураження шлунку, викликаного

поєднанням введенням ульцерогенних факторів - преднізолону (20мг/кг) і 80% етилового спирту в об'ємі 0,6мл/100г маси живої ваги тварини

Водний розчин "Флавитину" і препарат порівняння метилурацил вводили у шлунок за 0,5-1 годину до введення ушкоджуючих факторів

Результати експерименту наведені в таблиці 3

Таблиця 3

Протизапальна активність поліфенольного комплексу "Флавитин"

Умови дослідів	Доза, мг/кг	Ступінь ушкодження слизової оболонки шлунка	Протизапальна активність, % від контролю
Поліфенольний комплекс "Флавитин"	50	$2,20 \pm 0,01$	45
Метилурацил	126	$2,60 \pm 0,2^x$	35
Контроль	-	$4,0 \pm 0,04$	-

Примітка ^x - по відношенню до контролю при $p < 0,05$

Аналіз результатів показав, що досліджуваний комплекс "Флавитин" має виражену протизапальну активність, яка на 10% перевищує таку саму у метилурацилі

Приклад 5

Вивчення антиоксидантної активності поліфенольного комплексу "Флавитин" проводили на моделі експериментального гострого гепатиту у дошках на білих нелінійних щурах масою 180-240г

Експериментальний гострий гепатит моделювали внутрішньочеревним введенням щурам класичного гепатотоксину - тетрахлорметану, 25% масляний розчин якого вводили з розрахунку 0,2мл на 100г маси тіла тварини

Заявлений поліфенольний комплекс "Флави-

тин" у дозах 25мг/кг, 50мг/кг і 100мг/кг та препарат порівняння токоферол (Вітамін Е) у дозі 50мг/кг вводили тваринам внутрішньочеревно за допомогою спеціального зонду за 1 годину до ін'єкції гепатотоксину

Дослідні тварини були поділені на 6 груп тварини з експериментальним гепатитом, інтактні тварини, ліковані токоферолом та групи тварин, лікованих "Флавитином" у дозах 25мг/кг, 50мг/кг, 100мг/кг

Антиоксидантну активність (інтенсивність вільнорадикальних процесів) оцінювали за концентрацією малонового діальдегіду (МДА) у гомогенатах печінки

Дані експерименту наведені у таблиці 4

Таблиця 4

Антиоксидантна активність поліфенольного комплексу "Флавитин"

Умови досліду	Кількість тварин	Доза, мг/кг	Концентрація МДА у гомогенаті печінки, ммоль/л	Антиоксидантна активність, %
1	2	3	4	5
Тварини з експериментальним гепатитом	7	-	$74,0 \pm 3,2^x$	-
Інтактні тварини	7	-	$37,0 \pm 2,1$	-

1	2	3	4	5
Тварини, ліковані поліфенольним комплексом "Флавітин"	7	25	65,8±3,8	11,1
	7	50	39,9±2,8 ^{xx}	47,3
	7	100	49,1±3,8 ^{xx}	33,6
Тварини, ліковані токоферолом	7	50	42,1±3,0 ^{xx}	43,1

Використання "Флавітину" у дозах 25мг/кг та 100мг/кг викликало антиоксидантний ефект у порівнянні з інтактними тваринами (11,1% та 33,6% відповідно)

Найбільш виражена антиоксидантна активність спостерігалась при використанні "Флавітину" у дозі 50мг/кг-47,3%, яка перевищувала активність токоферолу у аналогічній дозі - 43,1%

Таким чином, експериментальне встановлено, що поліфенольний комплекс "Флавітин", одержа-

ний у відповідності з заявленим способом, характеризується комбінацією високих протизапальних, анальгетичних, протівиразкових та антиоксидантних властивостей

Заявлений спосіб простий і економічний, не потребує спеціального обладнання та дефіцитних або шкідливих для здоров'я людини і довкілля реагентів. Спосіб може бути впроваджений на будь-якому фармацевтичному підприємстві зі стандартним обладнанням