



УКРАЇНА

(19) UA (11) 96639 (13) C2

(51) МПК (2011.01)
A61K 36/73 (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)
A61P 7/10 (2006.01)
A61P 29/00ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ДІУРЕТИЧНОЮ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ДІЄЮ

1

(21) a200913815
(22) 29.12.2009
(24) 25.11.2011
(46) 25.11.2011, Бюл.№ 22, 2011 р.
(72) МАМЕДОВА СВІТЛАНА ОЛЕКСАНДРІВНА,
ПАВЛІЙ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ, ЖУРАВЕЛЬ
ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ЖЕГУНОВА ГАЛИНА
ПЕТРІВНА
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ
(56) UA 31446 U, 10.04.2008 (формула, 1 стор.)
RU 2276607 A, 20.05.2006 (6 стор.)
RU 2342945 C1, 10.01.2009 (12 стор.)
KR 100905388 B1, 01.07.2009 (реферат, 1 стор.)

2

Lineberry RA, Burkhardt L. Nutrient deficiencies in the strawberry leaf and fruit. Plant Physiol. 1943 Jul;18(3):324-33 [PMID: 16653856] (10 стор.)
(57) 1. Спосіб одержання засобу з діуретичною та протизапальною дією, що включає екстракцію рослинної сировини 50 % спиртом етиловим з подальшим упарюванням та сушінням одержаного екстракту, який **відрізняється** тим, що екстракції піддають листя суниці лісової при співвідношенні сировини і екстрагенту 1:6-1:7 протягом 5-6 годин, причому одну порцію сировини екстрагують тричі; одержані екстракти об'єднують та упарюють до 1/17-1/18 від попереднього об'єму.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що екстракції піддають листя суниці лісової, зібрані після періоду плодоношення.

Винахід належить до фармації та медицини, а саме до лікарських засобів рослинного походження, і може бути використаний як потенційний діуретичний та протизапальний засіб для лікування захворювань сечовивідної системи.

У сучасній медицині спостерігається пріоритетна тенденція надання переваги використанню лікарських засобів природного походження як хворими, так і лікарями.

Терапія урологічних захворювань передбачає тривале лікування. Тому використання препаратів рослинного походження, які практично не мають побічної дії на відміну від синтетичних, є актуальним. Такі засоби практично не токсичні, мають м'яку терапевтичну дію, майже не викликають алергічних реакцій та звикання до препарату. Як правило, лікування більшості захворювань сечовидільної системи потребує засобів комплексної діуретичної та протизапальної дії; кількість таких фітопрепаратів на вітчизняному фармацевтичному ринку обмежена.

Відомою лікарською рослиною з сечогінною, протизапальною та антисептичною дією є мучниця

звичайна, яку використовують у формі водних настоїв та відварів [1].

Проте водні витяжки з мучниці звичайної не підлягають тривалому зберіганню та їх важко стандартизувати за вмістом біологічно активних речовин (БАР), до того ж вони не проявляють виражену протизапальну дію та ареал їх розповсюдження на Україні обмежений.

Відомий спосіб одержання поліфенольного комплексу з ожини сизої переважно з діуретичною та гемостатичною дією [2], екстракцією 50 % етанолом при співвідношенні сировини і екстрагенту 1:8-1:9. Одержаний екстракт упарюють до видалення етанолу, відокремлюють осад, промивають його гарячою водою; одержану водну фракцію об'єднують з надосадовою рідиною і обробляють рівною кількістю 95 % етанолу, упарюють і сушать до сухого стану. Вихід готового продукту становить 5,03 % від повітряно сухої сировини.

Недоліком даного способу можна вважати його багатостадійність, надмірні витрати екстрагенту, введення додаткової обробки екстрагенту 95 %

(13) C2

(11) 96639

(19) UA

спиртом етиловим, низький вихід готового продукту.

Відомий також спосіб одержання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю [3], який полягає в екстракції листя винограду сорту Дабугі 50 % спиртом етиловим при співвідношенні сировини і екстрагенту 1:10 з подальшим упарюванням одержаного екстракту до водного залишку, фільтрацією та ресорбцією фенольних сполук з осаду водою, об'єднанням фільтрату з одержаним водним розчином, упарюванням і сушінням.

Проте засіб, одержаний наведеним способом, не має діуретичної дії, а сам спосіб є багатостадійним, потребує підвищеного використання спирту етилового та заготівлю сировини, культивування якої обмежено кліматичними умовами.

Задачею винаходу є створення способу одержання засобу з діуретичною та протизапальною дією, в якому шляхом використання як рослинної сировини листя суниці лісової та проведення екстракції при заданих умовах, досягають одержання економічним доступним способом ефективного природного засобу з вираженою фармакологічною дією для лікування захворювань сечовидільної системи.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з діуретичною та протизапальною дією, що включає екстракцію рослинної сировини 50 % спиртом етиловим з подальшим упарюванням та сушінням одержаного екстракту. Винаходом передбачено, що як рослинну сировину використовують листя суниці лісової, екстракцію здійснюють при співвідношенні сировини і екстрагенту 1:6-1:7 протягом 5-6 годин з подальшим упарюванням одержаного екстракту до 1/17-1/18 від попереднього об'єму. З метою вичерпної екстракції БАР сировину екстрагують тричі новими порціями екстрагенту, а одержані екстракти об'єднують.

Згідно з винаходом як сировину можна використовувати листя суниці лісової у різні періоди вегетації рослини, проте екологічно та економічно доцільним є використання листя після завершення періоду плодоношення. Авторами було досліджено і доведено, що листя суниці лісової у такий період за вмістом БАР поступається листю у попередні періоди і є перспективним для одержання за заявленим способом засобу з вираженою діуретичною та протизапальною дією.

Відоме використання листя суниці лісової як сировини для одержання діуретичних засобів у формі водних настоїв та відварів при лікуванні ранньої стадії гіпертонії, захворювань нирок, шлунка тощо [4].

Проте вміст БАР у водних настоях та відварах обмежений тільки водорозчинними сполуками і такі водні витяжки мають недостатньо високу фармакологічну активність. До того ж настої та відвари мають обмежений термін застосування, не придатні до тривалого зберігання, і, головне, не гарантують необхідне дозування БАР при вживанні.

Експериментальним шляхом було встановлено, що оптимальним екстрагентом для листя суниці є 50 % спирт етиловий. При цьому досягається ефективна екстракція необхідного комплексу біологічно активних речовин з сировини при економічному використанні екстрагенту.

При проведенні дослідів було визначено співвідношення сировини і екстрагенту як 1:6-1:7. При зменшенні кількості екстрагенту погіршується процес екстракції. Збільшення екстрагенту понад задане співвідношення економічно недоцільне. Для вичерпної екстракції з сировини комплексу біологічно активних речовин з заданим спектром фармакологічної дії одну й ту ж порцію сировини піддають екстракції новими порціями екстрагенту при вищенаведеному співвідношенні тричі протягом 5-6 годин; подальше екстрагування не приводить до суттєвого збільшення виходу кінцевого продукту. Об'єднання одержаних екстрактів забезпечує збільшення кількісного виходу та якості екстракту.

Упарювання об'єднаного екстракту здійснюють до 1/17-1/18 від попереднього об'єму. Подальше упарювання призводить до збільшення в'язкості екстракту, що технологічно ускладнює роботу з ним. При менш тривалому упарюванні екстракт містить надмірну вологу, що продовжує процес сушіння та збільшує енерговитрати.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Сухе листя суниці лісової подрібнюють до розміру часток 3-5 мм, засипають в екстрактор, заливають 50 % спиртом етиловим при співвідношенні сировина:екстрагент 1:6-1:7, екстрагують при кімнатній температурі протягом 5-6 годин. Зливають одержаний екстракт. Процес повторюють тричі з використанням нових порцій екстрагенту до повного вилучення біологічно активних речовин з сировини. Одержані екстракти об'єднують і упарюють до 1/17-1/18 попереднього об'єму, після чого висушують.

В результаті здійснення заявленого способу одержують засіб з діуретичною та протизапальною активністю у формі сухого екстракту темно-коричневого кольору, з присмним запахом, ледь гіркуватим смаком з наступними параметрами: вологість - 4,36 %, сухий залишок - 34,8 %, кількісний вміст діючих речовин: не менше ніж 8 % поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, 2 % флавоноїдів, 3,5 % гідроксикоричних кислот.

Готовий продукт легко розчинний у воді та етанолі, практично не розчинний у діетиловому ефірі, хлороформі.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

1000 г повітряно сухої сировини - листя суниці лісової (*Fragaria vesca* L.), подрібненого до розміру часток, які проходили крізь сито з діаметром отворів 3-5 мм, вміщували у екстрактор, заливали 7 л 50 % спирту етилового. При проведенні першої екстракції вміст екстрагенту було збільшено з урахуванням коефіцієнта поглинання на 3 л, тобто на таку кількість, яка поглинається повітряно сухою сировиною при намочуванні. Екстракцію проводили при кімнатній температурі протягом 6 годин. Процес було повторено тричі. Отримані екстракти

об'єднали, профільтрували і помістили у вакуум-випарний апарат при температурі 55 °C і тиску 85 кПа. Екстракт упарили до 1/17 від попереднього об'єму. Отриманий густий екстракт висушили до сухого у вакуумній сушильній шафі при температурі 70 °C і тиску 85 кПа.

Отримали 348 г сухого екстракту. Вихід готового продукту склав 34,8 % від повітряно сухої сировини. Екстракт містить 10,76 % поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, 3,56 % флавоноїдів у перерахунку на рутин, 5,74 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту.

Приклад 2

Вивчення діуретичної активності засобу, одержаного за заявленим способом, проводили у дослідках на безпородних білих щурах обох статей масою 200-280 г за методом Е.Б. Берхіна [5]. Дослідних тварин було поділено на 5 груп по 6 тварин у кожній: група 1 - контрольна; групи 2,3 - тварини, що одержували засіб, одержаний за заявленим способом, у дозах 25 та 50 мг/кг; групи 4,5 - тварини, що одержували препарати порівняння - фуросемід (ефективна доза - 10 мг/кг) та нефрофіт (ефективна доза 150 мг/кг). До водного наванта-

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

Розрахунок діуретичної активності робили за наступною формулою:

$$ДА = \frac{V_0 \times 100\%}{V_k},$$

де, ДА - діуретична активність, %;

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

V_k - об'єм сечі, виділеної тваринами контрольної групи, мл. Результати дослідження представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення діуретичної активності засобу, одержаного за заявленим способом

Досліджувані засоби	Доза, мг/кг	Діурез за 4 години, мл/100 г ($M \pm m$)	Активність до контролю, %
Контроль	-	1,6 \pm 0,25	100
Засіб, одержаний за заявленим способом	25	4,65 \pm 0,58	290*
	50	5,05 \pm 0,53	315*
Фуросемід	10	2,13 \pm 0,73	133
Нефрофіт	150	2,15 \pm 0,24	156

Примітка:

* - розбіжність статистично достовірна відносно контролю ($p < 0,05$)

Дані таблиці 1 свідчать, що найбільш активну діуретичну дію має засіб, одержаний за заявленим способом, в дозі 50 мг/кг, який збільшував діурез через 4 години на 215 % у порівнянні з контролем, на 182 % - з фуросемідом та 159 % - з нефрофітом.

За діуретичною активністю досліджений засіб перевищує препарати порівняння.

Приклад 3

Протизапальну активність засобу, отриманого за заявленим способом, вивчали на моделі карагенінового набряку [6]. Гострий карагеніновий набряк викликали у щурів масою 180-200 г шляхом субплантарного введення під апоневроз задньої кінцівки 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Піддослідні тварини отримували досліджувані засіб перорально у формі водного розчину у дозах 25 та 50 мг/кг за 1 годину до ін'єкції флогогену. Тваринам контрольної групи вводили еквівалентну кількість розчинника. Як препарати порівняння було використано альтап та ортофен у дозах 1 мг/кг та 8

мг/кг відповідно. Ступінь розвитку запалення оцінювали за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який визначали за допомогою механічного онкометра за Захар'євським А.С. на третій годині експерименту (піковий момент розвитку запальної реакції). Протизапальну активність досліджуваного засобу визначали за ступенем зменшення набряку кінцівок у дослідних тварин та тварин контрольної групи за наступною формулою:

$$ПА = \frac{(P_k - P_0) \times 100\%}{P_k},$$

де, ПА - протизапальна активність, %;

P_k - середня різниця в об'ємі набряклої та ненабряклої кінцівки у контролі;

P_0 - середня різниця в об'ємі набряклої та ненабряклої кінцівки у піддослідній групі тварин.

Дані про протизапальну активність наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Вивчення протизапальної активності засобу, отриманого за заявленим способом

Варіанти досліджу	Доза, мг/кг	Динаміка досліджу					
		1 година		2 години		3 година	
		Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %
Контроль	-	10,75±0,73	-	17±2,0	-	17,67±1,67	-
Засіб, одержаний за заявленим способом	25	9,75±1,53	9,3	16±1,0	5,88	13,26±0,5	24,96*
	50	8,75±1,25	18	15,75±1,25	7,35*	15,75±1,25	10,87*
Альтан	1	8,07±1,67	24,93	13,73±1,33	19,23*	14,07±1,33	20,37
Ортофен	8	7,33±1,0	31,81	10±2,0	41,18*	10,33±2,33	41,54

Примітка:

* - розбіжність статистично достовірна відносно контролю ($p < 0,05$)

За даними досліджу засіб, одержаний за заявленим способом, у досліджених дозах проявив виражену протизапальну активність, достовірно знижуючи розвиток набряку у порівнянні з контролем. У дозі 25 мг/кг на 3 годину досліджу засіб за протизапальною активністю перевищує препарат рослинного походження альтан, але поступається препарату синтетичного походження ортофену. Проте, приймаючи до уваги серйозну побічну негативну дію ортофену, досліджуваний новий засіб має переваги при тривалому застосуванні з огляду на його доведену нетоксичність при вираженій протизапальній активності.

Таким чином, заявлений новий спосіб одержання засобу з переважно діуретичною та протизапальною активністю з листя суниці лісової. Засіб, одержаний за заявленим способом, є нетоксичним, без побічних дій, придатним до тривалого застосування, насамперед, при профілактиці та лікуванні захворювань сечовидільної системи. Одержаний за заявленим способом засіб може бути застосований як самостійний лікарський засіб, так і як діюча субстанція для створення препаратів у різних лікарських формах.

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.

Джерела інформації:

1. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник. / За редакцією академіка АН УРСР А.М. Гродзинського. - Київ: видавництво "Українська радянська енциклопедія ім. М.П. Бажана", 1991. - с. 286.

2. Патент на корисну модель 20220, Україна, МПК (2006) А61К36/73, заявл. 13.07.2006, опубл. 15.01.2007, Бюл. № 1.

3. Патент 59681 А, Україна, А61К35/78, заявл. 15.11.2002 р., опубл. 15.09.2003 р., Бюл. № 9.

4. Светличная Е.И., Толоч И.А. Этимологический словарь латинских ботанических названий лекарственных растений. - Харьков.: Изд-во НФаУ "Золотые страницы". - 2003. - с.109.

5. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек. // Хим. -фарм. Журн., 1977. - Т. 11. - № 5. - с. 3-11.

6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації). За ред. чл.-кор. НАН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - с. 296.