



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **101723**

(13) **C2**

(51) МПК

A61K 31/732 (2006.01)

A61K 35/74 (2006.01)

A61K 36/21 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2011 09804**

(22) Дата подання заявки: **08.08.2011**

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: **25.04.2013**

(41) Публікація відомостей
про заявку: **26.12.2011, Бюл.№ 24**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.04.2013, Бюл.№ 8**

(72) Винахідник(и):

**Капельянець Леонід Вікторович (UA),
Гоцуленко Марія Ігорівна (UA),
Данилова Анастасія Олегівна (UA),
Захарієва Захаріна Єленкова (UA),
Запорожченко Олександр Вікторович (UA)**

(73) Власник(и):

**ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,
вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA),
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА,
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082 (UA)**

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

**RU 2256334 C2; 20.07.2005
RU 2217968 C2; 10.12.2003
RU 2230564 C2; 20.06.2004
RU 2129393 C1; 27.04.1999
RU 2093046 C1; 20.10.1997
UA 10383 A; 25.12.1996
RU 2290941 C1; 10.01.2007
RU 97114385 A; 27.02.1999
RU 2008125589 A; 27.12.2009**

(54) ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИЙ ЗАСІБ

(57) Реферат:

Винахід належить до експериментальної біології, медицини та харчової промисловості та стосується гепатопротекторного засобу, що містить високовуглеводний компонент - харчові волокна бурякового жому. Засіб може додатково містити лактобактерії та/або біфідобактерії та продукти їх життєдіяльності.

UA 101723 C2

Винахід належить до експериментальної біології, медицини і харчової промисловості, а саме біохімії, фармакології, патфізіології, ендокринології і використання біологічно активних добавок (БАД) з пробіотичними мікроорганізмами. Засіб може бути використаний як гіполіпідемічний і гепатопротекторний препарат.

Відомий засіб, що має гепатопротекторні властивості (див. патент РФ № 2008125589, опубл. 27.12.2009), на основі біомаси бактерій і продуктів їх метаболізму, який як біомасу бактерій містить *Bacillus subtilis*. Недоліком засобу є те, що використовується водно-гліцеринове середовище, яке є несприятливим для розвитку мікроорганізмів та зберігання їх в певній визначеній кількості, необхідній для досягнення лікувального ефекту, крім того, наявність гліцерину і ароматизатору звужує можливості використання засобу.

Відомий гіполіпідемічний і гепатопротекторний засіб (див. патент РФ № 97114385, опубл. 27.02.1999), що містить сухий буряковий сік, екстракти рослинної сировини. Недоліком засобу є необхідність отримання сухих екстрактів рослин, що передбачає складну енерговитратну технологічну обробку та використання у складі композиції легкозасвоюваних вуглеводів бурякового соку у кількості 80 % і більше. Це робить композицію висококалорійною.

Найбільш близьким по технічній суті до пропонованого засобу є гепатопротектор і фармакологічна композиція на його основі, що містить біомасу лактобактерій *Lactobacillus acidophilus* і продуктів їх метаболізму, отримана шляхом культивування штамів вказаної культури на знежиреному молоці з наступною інактивацією і висушуванням разом із середовищем культивування (патент РФ № 2290941, опубл. 10.01.07). Композиція виконана у формі таблетки або драже та крім біомаси лактобактерій і продуктів їхнього метаболізму містить мікрокристалічну целюлозу, стеарат кальцію або магнію, аеросил і арабіногалактан. Композиція може бути використана для профілактики й лікування гострих токсичних поразок печінки.

Ця композиція вибрана прототипом.

Прототип і винахід, що заявляється, мають такі спільні ознаки: наявність біомаси лактобактерій і продуктів їхнього метаболізму та вуглеводного компоненту.

Але засіб за прототипом має наступні недоліки:

- композиція передбачає інактивацію молочнокислих бактерій, внаслідок чого втрачається їх пробіотична дія;
- препарат містить стеарат кальцію або магнію, аеросил, які є нейтральними наповнювачами і не мають фізіологічної дії.

В основу винаходу поставлено задачу розробити гепатопротекторний засіб для профілактики і лікування гострих токсичних уражень печінки. Технічний результат полягає в запобіганні гострої токсичної дії на печінку, поліпшенні функціонального стану органів і систем організму зумовленого покращенням ліпідного обміну, стабілізації оксидантно-антиоксидантних систем організму. Метою винаходу є розширення спектру гепатопротекторних засобів, які мають гіпохолестеринемічні властивості.

Поставлена задача вирішена гепатопротекторним засобом, що містить високовуглеводний компонент, тим, що як високовуглеводний компонент він містить харчові волокна бурякового жому. Окрім цього даний засіб додатково містить лактобактерії та продукти їх життєдіяльності, при наступному співвідношенні компонентів, масова частка %:

харчові волокна бурякового жому	5,0-10,0
біомаса лактобактерій і продукти їх життєдіяльності	решта.

Засіб також додатково містить лактобактерії і біфідобактерії та продукти їх життєдіяльності, при наступному співвідношенні компонентів, масова частка %:

харчові волокна бурякового жому	5,0-10,0
біомаса біфідобактерій і продукти їх життєдіяльності	40-45
біомаса лактобактерій і продукти їх життєдіяльності	решта.

Вуглеводний комплекс (харчові волокна), які використовують у винаході, є неспецифічним сорбентом та непоганим субстратом як для мікрофлори шлунково-кишкового тракту, так і для сквашування лакто- та/або біфідобактерій, оскільки призводить до збільшення біомаси пробіотичної мікрофлори та до збільшення активності вказаних мікроорганізмів, що пов'язано із розщепленням вуглеводів.

Приклад 1

Приготування харчових волокон бурякового жому для використання їх як гепатопротекторного засобу. Наважку бурякового жому піддають гідролізу розчином гідроксиду натрію з концентрацією 0,1 % при температурі 60-65 °C протягом 20-30 хвилин при співвідношенні твердої маси до лужного розчину 1:(7-10), потім проводять обробку твердого залишку розчином перекису водню з масовою часткою H_2O_2 33-38 % при 60-65 °C протягом 1,5-2 годин при співвідношенні твердого залишку та розчину перекису водню 1:1, фільтрацію, промивання твердого залишку дистильованою водою, фільтрацію та висушування готового препарату до вологості 6-9 %. Готовий препарат – харчові волокна бурякового жому (ХВБурЖ) після висушування і подрібнення являють собою порошок світло-кремового кольору, з солодкуватим присмаком, термін придатності продукту не менш 12 місяців, при температурі зберігання 18 ± 1 °C. Дисперсійний склад порошку - 0,25-0,5 мм.

Приклад 2

Приготували гепатопротекторний засіб з лактобактеріями. Для цього вносили в поживне середовище (знежирене молоко) харчові волокна бурякового жому, подрібнені до розміру часток 0,1-0,25 мм при співвідношенні жом: поживне середовище 1:(7-10), потім додавали консорціум культур бактерій *Lactobacillus acidophilus* і *Lactobacillus bulgaricus* з титром не менше 10^6 КУО/г при співвідношенні до об'єму поживного середовища 1:20. Проквашування здійснювали 18-24 годин при температурі 37 ± 1 °C. Отриманий препарат являє собою густу рідину кремового кольору з приємним молочним запахом і смаком. При необхідності довгострокового зберігання препарат ліофільно висушують, використовують до або під час їжі для поліпшення ліпідного обміну та як гепатопротектор.

Приклад 3

Приготували гепатопротекторний засіб з лакто- та біфідобактеріями. Для цього вносили в поживне середовище (знежирене молоко) харчові волокна бурякового жому, подрібнені до розміру часток 0,1-0,25 мм при співвідношенні жом: поживне середовище 1:(7-10) потім до поживного середовища послідовно вносили спочатку консорціум бактерій *Bifidobacterium adolescentis* і *Bifidobacterium bifidum* з титром не менше 10^5 КУО/г при співвідношенні до об'єму поживного середовища 1:20 та культивували 18-24 години при температурі 37 ± 1 °C, потім додавали консорціум пробіотичних культур лактобактерій *Lactobacillus acidophilus* і *Lactobacillus bulgaricus* з термофільним стрептококом *Streptococcus thermophilus* з титром не менше 10^6 КУО/г при співвідношенні до об'єму поживного середовища 1:20, бактерії культивували ще 18-24 години при температурі 37 ± 1 °C та постійному перемішуванні. Отриманий препарат являє собою густу кремоподібну масу світло-кремового або молочного кольору з приємним запахом і молочним смаком. При необхідності довгострокового зберігання препарат ліофільно висушують, використовують до або під час їжі. Висушений препарат можливо таблетувати при температурі 45 ± 1 °C, тиск становить 30 МПа протягом 10 хвилин. Таблетована форма продукту містить $7 \cdot 10^8$ КУО/г лактобацил та $5 \cdot 10^8$ КУО/г біфідобактерій, що відповідає пробіотичній дозі для даного виду препаратів. Термін зберігання не менше 9 місяців при температурі 4 ± 2 °C.

Гепатопротекторну дію засобу досліджували на білих безпородних щурах з експериментальним хронічним гепатитом, який викликали внутрішньочеревно введенням 50 % розчину тетрахлорметану у олії.

В крові тварин визначали вміст загального білірубину, лужної фосфатази, аланінамінотрансферази (АлАТ), мкмоль/л/хв, аспартатамінотрансферази (АсАТ), мкмоль/л/хв, в тканинах печінки визначали вміст загальних ліпідів, відновленого глутатіону (GSH), мкмоль/г, коефіцієнт де Рітиса - співвідношення вмісту АсАТ до АлАТ.

В дослідженнях були задіяні 8 груп по 20 тварин. У період введення в раціон гепатопротекторного засобу спостерігали за темпами росту, загальним станом тварин. У тварин, що одержували в складі раціону ХВБурЖ, ХВБурЖ з лактобактеріями та ХВБурЖ з лакто- і біфідобактеріями не спостерігалось відхилень у поведінці, загальному стані від контрольних тварин.

Тварини були розділені наступним чином: 1 - контрольна - інтактні тварини, 2 - введення тетрахлоретану на протязі трьох днів, 3 - тварини, що у складі раціону отримували харчові волокна бурякового жому (ХВБурЖ), 4 - тварини з гепатитом, що у складі раціону отримували ХВБурЖ, 5 - тварини, що у складі раціону отримували препарат на основі ХВБурЖ з лактобактеріями, 6 – тварини з гепатитом, що у складі раціону отримували засіб з лактобактеріями, 7 - тварини, що у складі раціону отримували препарат на основі ХВБурЖ з лакто- та біфідобактеріями, 8 - тварини з гепатитом, що у складі раціону отримували засіб з лакто- та біфідобактеріями.

Оцінка ступеня ураження печінки здійснювалася за допомогою тесту на визначення активності сироваткової АсАТ крові. Активність визначали через 1, 3, 5, 7 діб після введення тетрахлоретану у порівнянні із зразками крові інтактних тварин, та тварин без гепатиту (табл. 2).

Гепатопротекторна дія засобів має комплексний характер і виражається в зниженні ліпідемії у тварин, що отримували їх у складі раціонів; зменшенні ступеня втрати маси тіла тварин з гепатитом (табл. 1); зниженні перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), активації антиокислювального захисту (АОЗ).

Тварини, що отримували засоби, мають різні значення активності ферментних систем та відрізняються станом окисдантної та антиоксидантної систем. На фоні токсичного гепатиту, викликаного у тварин тетрахлоретаном, в групах на раціонах з пропонуємими засобами виявлені неоднозначні зміни вивчених показників, при цьому всі добавки позитивно впливають на фізіолого-біохімічні показники стану експериментальних тварин (табл. 2).

На 3-5 добу у тварин розвився виражений токсичний гепатит, вага тварин зменшилася на 25-33 %, вага печінки збільшилася на 18-23 % в групі на ЗВР, відмічено по надлишкове наповнення кров'ю та помітні зміни кольору і структури органу. Печінка тварин в групі на раціоні із введенням ХВБурЖ збільшилася лише на 6-12 %, некротичні зміни відсутні, групі на раціоні із введенням ХВБурЖ з лактобактеріями на 4-8 %, в групі на раціоні із введенням ХВБурЖ з лакто- і біфідумбактеріями на 3-4 %. Активність АсАТ в контрольній групі з гепатитом підвищилася в 2,5-4 рази, порушилося співвідношення вмісту аспартатамінотрансферази - АсАТ мкмоль /л/хв до аланінамінотрансферази - АлАТ мкмоль/л/хв - коефіцієнта де Рітиса. В результаті проведених досліджень з'ясовано, що всі засоби попереджають гіперліпідемію та гіпербілірубінемію, зменшується активність АсАТ і АлАТ, в результаті досягається стабілізація коефіцієнта де Рітиса, а також зменшується активність лужної фосфатази. У засобу, що містить ХВБурЖ та лакто- і біфідобактерії найбільш виражений нормалізуючий вплив на підвищену токсикантом концентрацію ліпідів у сироватці крові.

З наведених у таблицях 1, 2 даних випливає, що всі види засобів: ХВБурЖ, композиції, що містять ХВБурЖ та лактобактерії, ХВБурЖ та лакто- і біфідобактерії при використанні перорально в складі раціонів харчування до або під час їжі здатні виявляти гепатопротекторні властивості, можуть бути використані для поліпшення ліпідного обміну.

Таблиця 1

Гепатопротекторна активність засобів при токсичному гепатиті у щурів, викликаному тетрахлорметаном, ($P \geq 0,95$)

Вид раціону	Група тварин	Летальність, %		Зміна маси тіла, г	Вага печінки, г
		3 доби	7 діб		
ЗВР	інтактні	0	0	+ 1,0	2,6±0,5
	з гепатитом	25	35	- 1,8	3,2±0,7
ЗВР з додаванням 10 % засобу					
ХВБурЖ	здорові	0	0	+ 0,95	2,5±0,4
	з гепатитом	6	8	- 1,1	2,8±0,5
ХВБурЖ з лактобактеріями	здорові	0	0	+ 1,0	2,4±0,5
	з гепатитом	4	6	- 0,65	2,6±0,5
ХВБурЖ з лакто- та біфідобактеріями	здорові	0	0	+ 1,1	2,5±0,4
	з гепатитом	2	4	-0,55	2,5±0,5
ЗВР з додаванням 20 % засобу					
ХВБурЖ	здорові	0	0	+ 0,98	2,4±0,5
	з гепатитом	8	10	- 1,1	2,6±0,5
ХВБурЖ з лактобактеріями	здорові	0	0	+ 1,2	2,6±0,4
	з гепатитом	4	6	- 0,55	2,7±0,5
ХВБурЖ з лакто- та біфідобактеріями	здорові	0	0	+ 1,0	2,3±0,3
	з гепатитом	2	4	- 0,43	2,4±0,4
ЗВР з додаванням 30 % засобу					
ХВБурЖ	здорові	0	0	+ 0,92	2,5±0,4
	з гепатитом	6	8	- 1,2	2,6±0,4
ХВБурЖ з лактобактеріями	здорові	0	0	+ 1,2	2,6±0,4
	з гепатитом	2	4	- 0,35	2,7±0,3
ХВБурЖ з лакто- та біфідобактеріями	здорові	0	0	+ 1,0	2,4±0,4
	з гепатитом	0	2	- 0,40	2,5±0,3

Таблиця 2

Результати дослідження впливу засобів на деякі біохімічні показники щурів, (P≥0,95)

Показники	Вид раціону							
	здорові тварини				тварини з гепатитом			
	1	3	5	7	2	4	6	8
кров								
Холестерин, ммоль/л	3,56	2,85	2,35	1,45	4,65	3,34	3,15	2,75
Білірубін, мкмоль/л	7,4	6,2	6,5	6,4	12,3	7,5	6,8	6,6
Загальний білок, г/л	76,4	61,9	78,5	75,2	91,5	67,3	81,1	82,7
АлАТ, мкмоль /л/хв	8,59	8,23	8,15	8,35	9,25	10,55	9,88	12,14
АсАТ, мкмоль /л/хв	11,42	10,45	10,35	10,86	18,97	16,14	14,85	14,15
Коефіцієнт де Рітца	1,33	1,27	1,27	1,30	2,05	1,53	1,50	1,17
GSH, мкмоль/г	19,72	19,58	20,15	22,42	16,20	17,81	18,53	19,21
ЛФ, нкмоль /л/с	334,1	325,5	348,2	330,5	457,9	416,1	485,2	358,7
МДА, нмоль/см	3,6	3,5	3,4	3,5	8,3	5,6	4,8	3,6
АОА, %	22,7	21,5	22,3	21,8	28,5	24,5	21,6	22,5
печінка								
МДА, нмоль/мг білка	2,61	2,33	2,06	2,14	4,78	3,82	2,76	2,54
Коефіцієнт де Рітца	1,32	1,32	1,22	1,31	2,14	1,36	1,34	1,32

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Гепатопротекторний засіб, що містить високовуглеводний компонент, який **відрізняється** тим, що як високовуглеводний компонент він містить харчові волокна бурякового жому.
2. Засіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що він додатково містить лактобактерії та продукти їх життєдіяльності, при наступному співвідношенні компонентів, масова частка %:
харчові волокна бурякового жому 5,0-10,0
біомаса лактобактерій і продукти їх життєдіяльності решта.
- 10 3. Засіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що він додатково містить лактобактерії і біфідобактерії та продукти їх життєдіяльності, при наступному співвідношенні компонентів, масова частка %:
харчові волокна бурякового жому 5,0-10,0
біомаса біфідобактерій і продукти їх життєдіяльності 40,0-45,0
біомаса лактобактерій і продукти їх життєдіяльності решта.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601