



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 101843

(13) U

(51) МПК

A61K 36/48 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: а 2014 13120

(22) Дата подання заявки: 08.12.2014

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: 12.10.2015(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 12.10.2015, Бюл. № 19

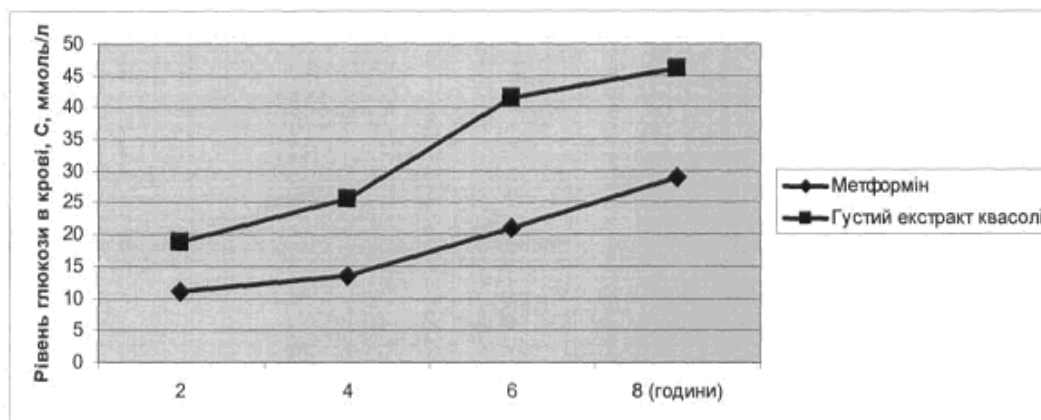
(72) Винахідник(и):

Ковальов Володимир Миколайович (UA),
Ковальов Сергій Володимирович (UA),
Демешко Ольга Володимирівна (UA),
Дмитрієвський Дмитро Іванович (UA),
Куцанян Акоп Сурікович (UA),
Малоштан Людмила Миколаївна (UA),
Рибак Вікторія Анатоліївна (UA)

(73) Власник(и):

Ковальов Сергій Володимирович,
пр. Тракторобудівників, 162, кв. 121, м.
Харків, 61129 (UA)**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ГІПОГЛІКЕМІЧНОЮ ДІЄЮ****(57) Реферат:**

Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з гіпоглікемічною дією шляхом екстракції рослинної сировини спиртом з наступною фільтрацією, упарюванням та сушінням, причому як рослинну сировину використовують траву квасолі звичайної разом з коренями зернових сортів, екстракцію проводять при співвідношенні сировина: екстрагент 1:10-1:12.



UA 101843 U

Корисна модель належить до фармації та медицини, а саме до способів одержання біологічно активних речовин з рослинної сировини, зокрема видів та сортів квасолі.

Рід квасолі (*Phaseolus* L.) включає до 230 видів, які поділяються на дві групи: американська та азіатська. На території СНД та України культивується 5 видів квасолі та близько 60 сортів, насіння яких використовуюється у харчовій промисловості.

Найбільш поширеними є види: квасолі звичайна (*Phaseolus vulgaris* L.) та її сорти (Харківська 8, Червона місцева, Мукранула 4, Олтин, Мотольська біла, Делікатес, Кишиневська штамбова, Дніпровська-8, Дружба, Апаран, Карабах, Діліжан, Ечміадзин, Харківська-7 та інші), квасолі багатоквіткова (*Ph. multiflorus* Wild.), квасолі золотиста (*Ph. aureus* (Roxb.) Piper.), квасолі лімська (*Ph. lunatus* L.), квасолі гостролиста (*Ph. acutifolius* A. Gard.) [1].

Лушпиння квасолі звичайної здавна використовують у народній медицині для лікування цукрового діабету, а трава цього виду сорту Дніпровська і трава квасолі золотистої - для одержання сумарних комплексів фенольних сполук, які виявили виражену гіпоглікемічну дію [2-4].

З метою розширення сировинної бази нами вивчені інші найбільш перспективні сорти квасолі звичайної - Вірменський, Харківська 8 і Червона місцева.

Відомий спосіб одержання комплексу біологічно активних сполук, який виявляє цукрознижуючу дію [3]. Зазначений спосіб здійснюють шляхом екстракції трави зернових сортів квасолі звичайної, наприклад, сорту Дніпровська-8, зібраної після збору насіння, 50 % етанолом при співвідношенні сировини: екстрагент 1:2,5, настоювання при кімнатній температурі протягом 24 годин. Одержаний при перколяції витяг випарюють до водного залишку, залишають на 4-5 годин при температурі 5-10 °C і осад смолистих речовин відокремлюють фільтрацією. Фільтрат змішують з подвійним об'ємом 96 % етанолу, осад відфільтровують, а спирто-водний розчин випарюють досуха. Вихід готового продукту 4,5 % від повітряно-сухої сировини [3].

Недоліками відомого способу можна вважати його довготривалість, висушування до сухого залишку, низький вихід кінцевого продукту та його гігроскопічність.

Відомий також спосіб одержання засобу, який виявляє гіпоглікемічну активність, шляхом екстракції трави квасолі золотистої 50 % етанолом, при співвідношенні сировини: екстрагент 1:8-1:10, настоювання при кімнатній температурі протягом 24 годин, з наступним перколюванням, упарюванням до водного залишку, відстоюванням, відокремленням осаду смолистих речовин, висадженням білків та полісахаридів подвійним об'ємом 96 % етанолу і упарюванням фільтрату до водного залишку. Водний залишок обробляють п'ятикратно рівними об'ємами хлористого метилену, а очищений водний екстракт випарюють до сухого залишку. Вихід кінцевого продукту 5,4 % від повітряно-сухої сировини [4].

До недоліків зазначеного способу, як і у попередньому випадку, можна віднести довготривалість, очистку екстракту хлорорганічним розчинником, низький вихід готового продукту та його гігроскопічність.

Задачею корисної моделі є створення нового способу одержання комплексу біологічно активних речовин з гіпоглікемічною дією з квасолі звичайної сортів Вірменський, Харківська 8 і Червона місцева, в результаті чого отримують густий екстракт з високим виходом і гіпоглікемічною дією.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у даному способі одержання комплексу біологічно активних речовин з лікарської рослинної сировини, який включає екстракцію 50 % етанолом, упарювання, відстоювання, відокремлення смолистих речовин, висадження білків і полісахаридів подвійним об'ємом 96 % етанолу і випарювання фільтрату до густого екстракту згідно з корисною моделлю, як рослинну сировину використовують траву квасолі звичайної разом з коренями сортів Вірменський, Харківська 8 і Червона місцева, екстракцію проводять методом перколяції при співвідношенні сировини: екстрагент 1:10-1:12.

Вибір екстрагенту і параметрів способу визначено експериментальним шляхом, враховуючи ступінь біологічної активності отримання кінцевого продукту, його ефективності, доступності та безпечності при одержанні у промислових умовах.

Експериментально встановлено, що використання як екстрагенту 50 % етанолу при заданих умовах забезпечує найбільш повне екстрагування біологічно активних речовин у кінцевому продукті.

Корисну модель здійснюють наступним чином.

Подрібнену повітряно-суху траву квасолі звичайної разом з коренями сортів Вірменський, Харківська 8 і Червона місцева завантажують у перколятор, заливають 50 % етанолом до дзеркала, настоюють при кімнатній температурі 24 години і витяг перколюють, дотримуючись співвідношення сировини: екстрагент 1:10-1:12. Отриманий екстракт упарюють, відстоюють, фільтрують, висаджують білки і полісахариди подвійним об'ємом 96 % етанолу і упарюють до

густого екстракту. Одержують готовий продукт у вигляді густої маси, темно-брунатного кольору зі специфічним запахом, добре розчинний у воді, практично не розчинний у етері, хлороформі.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. У перколятор завантажують 1,0 кг подрібненої трави квасолі звичайної разом з коренями сорту Вірменський, заливають 50 % етанолом у співвідношенні сировина: екстрагент 1:3 і настоюють при кімнатній температурі 24 години. Витяг перколюють, дотримуючись співвідношення сировина: екстрагент 1:10-1:12, до одержання 10 л екстракту, який упарюють до 1 л водного залишку. Водний розчин залишають на 4-5 годин при температурі 5-10 °С для висадження смолистих речовин, хлорофілів, які відокремлюють фільтруванням. Фільтрат змішують з 2 л 96 % етанолу. Аморфний осад, що виділився, (білки, полісахариди) відокремлюють фільтруванням, а спирто-водний розчин упарюють у вакуум-циркуляційному апараті із залишковим тиском 15 мм рт. ст. до одержання густого екстракту. Отримали 216 г екстракту. Вихід склав 21,38 % від маси повітряно-сухої сировини.

Приклад 2. У перколятор завантажують 1,5 кг подрібненої трави квасолі звичайної разом з коренями сорту Харківська 8 або Червона місцева, заливають 50 % етанолом у співвідношенні сировина: екстрагент 1:3 і настоюють при кімнатній температурі 24 години. Витяг перколюють, дотримуючись співвідношення сировина: екстрагент 1:10-1:12, до одержання 18 л екстракту, який упарюють до 1,5 л водного залишку. Водний розчин залишають на 4-5 годин при температурі 5-10 °С для висадження смолистих речовин, хлорофілів, які відокремлюють фільтруванням. Фільтрат змішують з 3,0 л 96 % етанолу. Аморфний осад, що виділився, (білки, полісахариди) відокремлюють фільтруванням, а спирто-водний розчин упарюють у вакуум-циркуляційному апараті із залишковим тиском 15 мм рт. ст. до одержання густого екстракту. Отримали 304,2 г і 326 г екстракту відповідно. Вихід склав 20,26 % та 21,73 % від маси повітряно-сухої сировини.

Приклад 3. Гіпоглікемічну активність комплексу біологічно активних речовин з трави квасолі звичайної, одержаного за заявленим способом, визначали на тлі гострої інсулінової недостатності, викликані антиінсуліновою сироваткою (AIC) у кролів.

Гостру інсулінову недостатність у кролів викликали введенням AIC в дозі 3 мл на тварину. AIC отримували у морських свинок, для імунізації яких використовували інсулін великої рогатої худоби [5].

AIC морських свинок, введена тваринам інших видів, інактивує інсулін у крові, β-клітинах підшлункової залози і, таким чином, викликає гострий діабетичний синдром, не порушуючи інших функцій організму. При моделюванні використовували AIC з титром преципітації 1:512.

Дослідження проведені на 15 кролях породи Шиншила масою 2,8-3,2 кг. Всі тварини були розподілені на 3 групи по 5 в кожній. За 2 години до введення AIC тваринам 1 групи (контрольна) внутрішньошлунково вводили еквівалентну кількість питної води, 2 групи - препарат порівняння метформін, 3 групи - густий екстракт квасолі.

У кролів всіх груп з вушної вени забирали кров для визначення рівня глюкози - вихідного, під час введення AIC та через 2, 4, 6 і 8 годин після одноразового введення препарату порівняння - метформіну в терапевтичній дозі 30 мг/кг та густого екстракту квасолі в дозі 40 мг/кг, що була встановлена в попередніх дослідженнях. Концентрацію глюкози в крові тварин визначали глюкозооксидазним методом за допомогою набору реактивів фірми "Філісіт-Діагностика".

Дослідження проводили у відповідності з вимогами комісії з біоетики НФаУ і "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Київ, 2001), що відповідають положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [5]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами дисперсійного аналізу за допомогою програми "Statistica, v.6,0".

Показники рівня глюкози в крові тварин під час введення AIC у всіх дослідних груп мали тенденцію до підвищення. В контрольній групі тварин цей показник підвищився на 4,3 ммоль/л, в групі тварин, що отримувала в лікуванні метформін - на 4,9 ммоль/л та в групі тварин, що отримувала густий екстракт квасолі - на 4,8 ммоль/л по відношенню до вихідних показників (табл. 1).

Через дві години дослідження у тварин контрольної групи відбувається подальше підвищення рівня глюкози в крові на 6,9 ммоль/л по відношенню до вихідних показників. В цей самий час рівень глюкози у крові тварин, що отримували метформін та густий екстракт квасолі почав знижуватися на 11,1 % і на 18,9 % по відношенню до показнику введення AIC (креслення Гіпоглікемічна активність густого екстракту квасолі на глікемію, викликану антиінсуліновою сироваткою у кролів).

Через чотири години дослідження у тварин контрольної групи рівень глюкози в крові знаходиться на висоті - підвищується на 8,1 ммоль/л і тільки через шість годин дослідження

розпочинається тенденція до зниження рівня глюкози на 3,9 % по відношенню до показнику введення АІС.

Через чотири та шість годин дослідження спостерігалось виражене зниження рівня глюкози в крові тварин, що отримували густий екстракт квасолі на 25,5 % і на 41,5 %, а в групі тварин, що отримували метформін - на 13,6 % і на 20,9 % до показнику введення АІС.

Таблиця 1

Вплив густого екстракту квасолі на глікемію,
викликану антиінсуліновою сироваткою (АІС) у кролів ($M \pm m$), ($n=5$)

Досліджуваний об'єкт/ мг/кг	Динаміка вмісту глюкози (С, ммоль/л)					
	Вихідні дані	Під час введення АІС	через 2 год.	через 4 год.	через 6 год.	через 8 год.
Контроль	5,9±0,110	10,2±0,141*	12,8±0,066*	14,0±0,163*	9,8±0,114*	7,8±0,156*
Метформін (30 мг/кг)	6,1±0,187	11,0±0,130*	9,8±0,139*	9,5±0,120*	8,7±0,112*	7,8±0,121**
Густий екстракт квасолі (40 мг/кг)	5,8±0,058	10,6±0,086*	8,6±0,175*	7,9±0,068*	6,2±0,066***	5,7±0,100***

Примітка: * - $p_1 < 0,001$ - достовірно по відношенню до вихідних даних,

** - $p_2 < 0,01$ - достовірно по відношенню до вихідних даних,

*** - $p_3 < 0,05$ - достовірно по відношенню до вихідних даних.

Через вісім годин дослідження продовжується зниження рівня глюкози у крові тварин контрольної групи на 23,5 % по відношенню до показнику введення АІС. В цей самий час зберігається виражена тенденція до зниження рівня глюкози в крові тварин на 46,2 % до показнику введення АІС та відновлення вихідного показнику в групі тварин, що отримували в лікуванні густий екстракт квасолі. В групі тварин, що отримувала метформін - рівень глюкози знизився тільки на 29,1 % по відношенню до показнику введення АІС.

За всіма часовими точками дослідження (через 2, 4, 6 і 8 годин) густий екстракт квасолі проявив виражену гіпоглікемічну дію і переважав над дією препарат порівняння - метформін в 1,7; 1,9; 2,0 і 1,6 разів відповідно.

На тлі розвитку АД у кролів густий екстракт квасолі проявляє інсуліноподібну дію, а саме зв'язує аутоінсулінові тіла та вивільняє ендogenous інсулін.

Встановлений виражений антигіперглікемічний ефект густого екстракту квасолі дає можливість для використання його в лікуванні інсулінової недостатності при діабеті "LADA".

В результаті здійснення заявленого способу одержують комплекс біологічно активних речовин з вираженою гіпоглікемічною активністю, який є перспективним для використання як лікарської субстанції при створенні лікарських препаратів для лікування цукрового діабету.

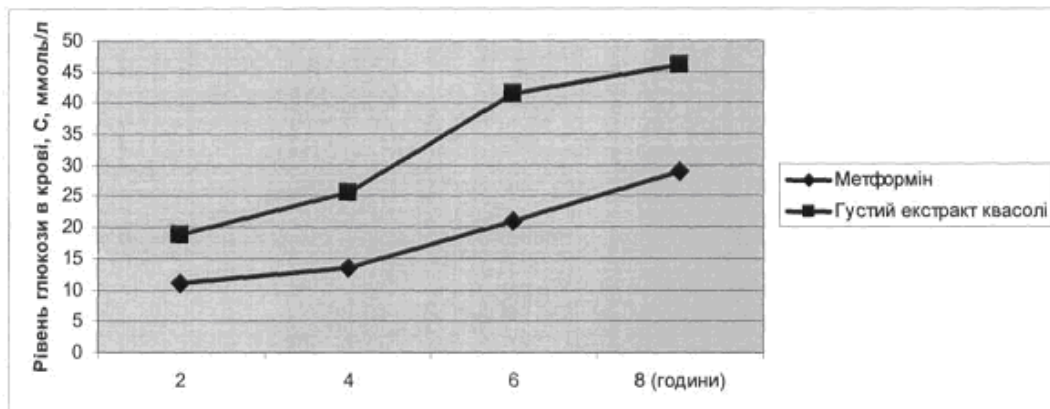
Заявлений спосіб дає змогу раціонального використання доступних сировинних ресурсів, є економічним, безпечним і легко відтворюваним на підприємствах фармацевтичної галузі України.

Джерела інформації:

1. Иванов, Н.Р. Фасоль / Н.Р. Иванов. - Л.-М.: Сельхозгиз, 1961. - Изд. 2-е, перераб. - 280 с.
2. Васюкова, Е.А. Лечение и профилактика сахарного диабета / Е.А. Васюкова, Г.С. Зефирова // Терапевт, арх. - 1977. - Т. 49, № 1. - С. 17-21.
3. А. с. № 7005, Украина, А61К35/78. Способ получения комплекса биологически активных соединений, обладающего сахароснижающим действием / В.Н. Ковалев, В.И. Дихтярев, Н.Ф. Комиссаренко, Л.Д. Халеева, И.М. Тимашева. Заявитель Харьковский государственный фармацевтический институт. - Заявка СССР № 3966130/28-13 с приоритетом от 16.12.81, № 3375430/28-13 от 04.01.82.
4. Патент № 48031, Україна, А61К 36/48. Спосіб отримання засобів, які мають гіпоглікемічну активність / В.М. Ковальов, А.Б. Седова, В.І. Дихтярьов, О.Г. Ситнік. Заявник та патентотримувач НФаУ. - № 4387530/SU, заявл. 03.03.1988; опубл. 15.08.2002, бюл. № 8.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод, рекомендації. / За ред. чл.-кор. НАМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - 528 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з гіпоглікемічною дією шляхом екстракції рослинної сировини спиртом з наступною фільтрацією, упарюванням та сушінням, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують траву квасолі звичайної разом з коренями зернових сортів, екстракцію проводять при співвідношенні сировина:екстрагент 1:10-1:12.



Комп'ютерна верстка О. Рябко

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

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