



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **68072** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
A61K 36/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 11145	(72) Винахідник(и): Башура Олександр Геннадійович (UA), Половко Наталя Петрівна (UA), Башура Андрій Олександрович (UA), Рахмаїл-Петкова Ганна Романівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 19.09.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.03.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.03.2012, Бюл.№ 5	(73) Власник(и): Башура Олександр Геннадійович, вул. Сидора Ковпака, 200, м. Харків, 61052 (UA), Половко Наталя Петрівна, вул. Командарма Корка, 18, кв. 57, м. Харків, 61023 (UA), Башура Андрій Олександрович, вул. Сидора Ковпака, 83, м. Харків, 61052 (UA), Рахмаїл-Петкова Ганна Романівна, вул. Чічібабіна, 2, кв. 116, м. Харків, 61002 (UA)
	(74) Представник: Лерантович Еліна Томашівна, реєстр. №285

(54) ЗАСІБ З ТРОМБОЛІТИЧНОЮ, СУДИНОЗМІЦНЮЮЧОЮ, МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧОЮ, ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

Засіб з тромболітичною, судинозміцнюючою, мембраностабілізуючою та протизапальною активністю є спиртово-водним екстрактом з листя каштана кінського.

UA 68072 U

Корисна модель належить до фармації, зокрема до засобів з лікарської рослинної сировини, з вираженою тромболітичною, судинозміцнюючою, мембраностабілізуючою та протизапальною активністю.

Відомий лікарський засіб "Ескузан", стандартизований водно-спиртовий екстракт із плодів каштану кінського, який зменшує проникність капілярів, підвищує тонус венозних судин, зменшує запальні явища. Застосовують "Ескузан" як венотонізуючий та антитромботичний засіб при венозному застої та розширенні вен нижніх кінцівок, при геморої, виразках гомілки (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Харьков: Торсинг, 1997, Т. 1. - С. 452).

Екстракт насіння кінського каштана, що містить есцин - венотонізуючий засіб рослинного походження для місцевого та системного застосування при порушеннях венозного кровообігу. Застосовується при посттромбофлебітичних синдромах, симптомах хронічної венозної недостатності різного походження (набряки, судоми литкових м'язів, біль, тяжкість і напруга в нижніх кінцівках, варикозне розширення вен), посттравматичних або післяопераційних болях і набряках (вивихи, забиті місця, розтягнення або розрив зв'язок, гематоми), геморої.

Відомий лікарський засіб "Есфлазид" з каштана кінського у формі таблеток, який містить 0,005 г есцину (з плодів) та 0,025 г флавазиду (сума флавоноїдів з листя) застосовують "Есфлазид" при флебітах (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Харьков: Торсинг, 1997, Т. 1. - С. 452).

Найближчим до заявленого є препарат "Ескузан" ("Эскузан", капли, фл 20 мл N1 × 1 Анкерфарм ГЕРУ Ескузан - препарат містить екстракт плодів каштана кінського і тіамін (вітамін B₁). Має антиоксидантну, протинабрякову, антиексудативну, капіляропротекторну і венотонізуючу дію.

Недоліками названого засобу є складність технологічного процесу.

В основу корисної моделі поставлена задача створити засіб з вираженою тромболітичною, судинозміцнюючою, мембраностабілізуючою та протизапальною активністю, в якому шляхом використання листя каштана кінського як сировини та 40 % етанолу, проведенням екстракції біологічно активних речовин отримують засіб, який може бути використаний як лікарський препарат або як активна діюча речовина при виготовленні лікарських та лікувально-косметичних препаратів у різних формах, причому сам спосіб отримання засобу є економічним та простим у виконанні.

Поставлена задача вирішується тим, що при виготовленні засобу, що є настойкою з лікарської рослинної сировини, використовують листя каштана кінського при такому співвідношенні компонентів:

листя каштану - 100 г

етанол 40 % - достатня кількість до отримання 1 л настойки.

Засіб отримують екстракцією подрібненого листя каштана кінського етанолом, відстоюванням з подальшим фільтруванням настойки. Корисною моделлю передбачено, що як сировину використовують листя каштана кінського, екстракцію проводять 40 % етанолом при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10 методом ремацерації.

Використання як сировини листя каштана кінського обумовлене тим, що проведені авторами дослідження показали, що дана сировина проявляє виражену тромболітичну, судинозміцнюючу, мембраностабілізуючу та протизапальну активність, за якою не поступається препаратам, що містять вилучення з плодів каштана кінського.

В результаті експерименту встановлено, що настойка листя каштана кінського в досліджуваній дозі достовірно збільшує час згортання крові порівняно з контролем.

Встановлено, що настойка листя каштана кінського має судинозміцнюючу дію, зменшуючи майже в 1,5 рази судинну проникність на тлі формалінового флогогента.

Настойка листя каштана кінського проявляє протизапальну дію на моделі карагенінового набряку у щурів, впливаючи на ексудативну фазу запалення, а саме на метаболізм і вивільнення простагландинів, які впливають на мікроциркуляцію судин.

Настойка листя каштана кінського проявляє виражену мембраностабілізуючу дію in vitro на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів.

У ході проведення експериментів визначено, що оптимальним екстрагентом для одержання засобу з тромболітичною, судинозміцнюючою, мембраностабілізуючою та протизапальною активністю є етанол у концентрації 40 %.

При зменшенні концентрації етанолу нижче 35 % не досягається максимальне вилучення біологічно активних речовин. Збільшення концентрації етанолу понад 40 % недоцільне, бо не призводить до суттєвого збільшення виходу БАР.

Доцільність використання при отриманні заявленого засобу співвідношення 1:10 доведено експериментальним шляхом і враховує хімічний склад ЛРС та особливості її вологопоглинання.

При зменшенні співвідношення сировина: екстрагент спостерігалось зменшення виходу основних груп БАР внаслідок неповного намокання сировини.

При збільшенні співвідношення сировина: екстрагент не спостерігається суттєвих змін у якісному складі кінцевого продукту, проте зростають витрати екстрагенту та зменшується кількісний вміст БАР.

З метою забезпечення вичерпної екстракції БАР із сировини заявленим способом передбачено проведення екстракції методом ремацерації послідовно у 2 етапи з примусовим перемішуванням екстрагенту, з наступним об'єднанням одержаних вилучень.

Засіб одержаний за заявленим способом - рідина червоно-бурого кольору, зі специфічним запахом, що містить не менш ніж 0,1 % флавоноїдів у перерахунку на кверцитин.

Заявлений засіб отримують наступним чином: подрібнене листя каштана кінського піддають екстракції 40 % етанолом у співвідношенні 1:10, екстракцію проводять послідовно у два етапи новими порціями екстрагенту. Одержані вилучення об'єднують та фільтрують.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1.

100 г листя каштана кінського подрібнювали до розміру часток 1-3 мм, піддавали екстракції 40 % етанолу при співвідношенні 1:10 двічі. Одержані вилучення об'єднували та фільтрували. Одержували 1 л кінцевого продукту.

Приклад 2.

Визначення впливу настойки листя каштана кінського на швидкість згортання крові проводили по методу Альтгаузена. На ретельно промите і сухе скло наносили 2-3 краплі крові, потім через кожні півхвилини проводили через кров скарифікатором, поки за голкою не потягнеться перша нитка фібрину. Настойку листя каштана кінського заздалегідь давали тваринам в дозі 3 мл/кг протягом трьох днів. Препаратом порівняння служив ескузан в дозі 3 кап./кг. В результаті експерименту встановлено, що настойка листя каштана кінського в досліджуваній дозі достовірно збільшує час згортання крові порівняно з контролем. Результати дослідження представлені в табл. 1.

Дослідження впливу настойки листя каштана кінського на проникність судин проводили на щурах масою 200-250 г. За дві години до експерименту дослідній групі тварин перорально вводили настойку каштана кінського в дозі 3 мл/кг. Контрольна група отримувала еквівалентну кількість води очищеної.

Щурів наркотизували, вводячи внутрічеревинно барбаміл в дозі 60 мг/кг маси тварини, фіксували на операційному столику животом вгору. Шерсть в області живота ретельно вистригали. У стегнову вену вводили 1 % розчин трипанового синього з розрахунку 2 мл/кг маси тіла. Для підвищення проникності судин використовували різні флогогенні агенти: формалін, білок і ксилол, які вводили підшкірно в ділянку живота через 10 хв після введення барвника.

Оцінку судинозміцнюючої дії проводили по різниці в часі фарбування папул у контрольних і дослідних тварин. Результати дослідження, представлені в табл. 2. Вказують на те, що у дослідній групі спостерігається зменшення судинної проникності, викликаній всіма флогогенними речовинами. Найбільш виражений судинозміцнюючий ефект настойка листя каштана кінського проявляла в експерименті з формаліном, де фарбування папули було в 1,5 разу повільніше в порівнянні з контрольною групою у групі з білком - у 1,4 разу, з ксилолом - у 1,02 разу в порівнянні з контролем, що свідчить про те, що настойка листя каштана кінського має судинозміцнюючу дію, зменшуючи майже в 1,5 разу судинну проникність на тлі формалінового флогогента.

Протизапальну активність настойки каштана кінського оцінювали на моделі карагенінового набряку на безпородних білих щурах. Набряк викликали субплантарним введенням в задню праву лапу 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Протизапальну активність настойки листя каштана кінського на моделі карагенінового набряку вивчали в дозі 12 мл/кг і препарат порівняння вольтарен в дозі 3,8 мг/кг вводили перорально за годину до ін'єкції флоготропного агента. Контрольні тварини отримували воду в дозі 12 мл/кг. Про розвиток набряку судили по збільшенню об'єму лапи, який вимірювали в динаміці через 1,2, 3,4, 5 і 24 години за допомогою онкометра по А. С. Захаревському.

Про антиексудативній активності настойки судили по ступеню зменшення набряку у дослідних тварин порівняно з контрольними і виражали у %. Формула розрахунку антиексудативної активності:

$$\% \text{пригнічення} = \frac{V_k - V_o}{V_k} 100\%$$

, де:

V_k - об'єм лапи в контрольній групі;

V_o - об'єм лапи в дослідній групі.

Результати досліджень представлені в табл. 3.

Експериментально встановлено, що настойка листя каштана кінського має протизапальну активність у всіх досліджуваних дозах. Достовірна зміна протизапальної активності порівняно з контролем зафіксована в дозах 3 і 5 мл/кг. Встановлено, що настойка каштана кінського не поступається по активності референтному препарату в дозі 3 мл/кг і проявляє протизапальну дію на моделі карагенінового набряку у щурів, впливаючи на ексудативну фазу запалення, а саме на метаболізм і вивільнення ПГ, які впливають на мікроциркуляцію судин.

Визначення мембраностабілізуючої активності настойки каштана кінського проводили на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів по Ягеру.

Досліджувану настойку листя каштана кінського вводили в умовно-терапевтичній дозі 3 мл/кг. Як препарат порівняння використовували ескузан в дозі 3 краплі на кілограм маси тварини. Тваринам дослідної групи щодня протягом трьох днів перорально вводили настойку каштана кінського в дозі 3 мл/кг, контрольні тварини отримували еквівалентну кількість води. Другій дослідній групі тварин вводили ескузан в дозі 3 кр/кг. На 4-у добу у тварин брали кров в кількості 0,1 мл і змішували з робочим розчином натрію хлориду. Після центрифугування при 1500 об/хв протягом 10 хвилин залишали осад еритроцитів, який після інкубації ще раз центрифугували і визначали екстенцію на ФЕК.

Ступінь гемолізу (X %) еритроцитів в дослідній і контрольній групі розраховують по формулі:

$$X = \frac{(\Sigma_1 + \Sigma_2)}{2 \Sigma_3} \cdot 100\%$$

, де:

Σ_1 і Σ_2 - екстенція першої і другої проб з робочим розчином;

Σ_3 - екстенція з водою очищеною.

В результаті експерименту (табл. 4) встановлено, що настойка листя каштана кінського проявляє високу мембраностабілізуючу активність, яка достовірно перевищує активність в контролі, та не поступається по активності референтному препарату.

Таким чином, заявлений засіб має наступні переваги - він проявляє виражену тромболітичну, судинозміцнюючу, мембраностабілізуючу та протизапальну, є нетоксичним. Засіб, що заявляється, може бути використаний як лікарський препарат та для одержання на його основі лікарських та лікувально-косметичних препаратів у різних формах. Спосіб отримання засобу простий у виконанні, не потребує спеціальних умов та обладнання, може бути відтворений в умовах стандартного фармацевтичного виробництва та має достатню вітчизняну сировинну базу.

Таблиця 1

Вплив настойки листя каштана кінського на швидкість згортання крові (сек.¹) in vitro

Контроль	Настойка листя каштана кінського, доза 3 мл/кг	Ескузан, доза 3 кап./кг
265,5±13,96	322,7±5,18*	312,5±7,13

* - відхилення достовірне по відношенню до контролю.

Таблиця 2

Вплив настойки листя каштана кінського на проникність капілярів

Дослідна група	Час профарбування папул, хв		
	Флогогені речовини		
	білок	формалін	ксилол
Контроль	4,09±0,24	6,33±0,17	4,64±0,095
Настойка листя каштана кінського	5,73±0,12*	9,52±0,13*	5,52±0,12*
Різнця	1,64	3,19	0,88
Ескузан	5,13±0,10*	8,65±0,22*	5,29±0,11*
Різнця	1,13	2,32	0,69

* - відхилення достовірне по відношенню до контролю.

Таблиця 3

Протизапальна активність і настойки листя каштана кінського на моделі карагенінового набряку

Об'єкт дослідження	Доза	Величина набряку в ум. од.	% протизапальної активності
Контроль	12 мл/кг	0,196±0,035	-
Настойка листя каштана кінського	3 мл/кг	0,051±0,013*	74
Настойка листя каштана кінського	5 мл/кг	0,082±0,010*	58
Настойка листя каштана кінського	1 мл/кг	0,133±0,007	32
Вольтарен	3,8 мл/кг	0,040±0,005*	80

* - відхилення достовірне по відношенню до контролю.

Таблиця 4

Результати вивчення мембраностабілізуючої активності настойки листя каштана кінського

Умови експерименту	Доза	Ступінь гемолізу, % еритроцитів	Мембраностабілізуюча активність, %
Інтактний контроль	-	12,1±1,28	-
Ескузан	3 кр/кг	4,46±0,412	63,15
Настойка листя каштана кінського	3 мл/кг	4,47±0,8	61,6

5 * - відхилення достовірне по відношенню до контролю.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10 1. Засіб з тромболітичною, судинозміцнюючою, мембраностабілізуючою та протизапальною активністю, що є спиртово-водним екстрактом з лікарської рослинної сировини, який **відрізняється** тим, що як лікарську рослинну сировину використовують листя каштана кінського при наступному співвідношенні компонентів:

листя каштана 100 г
кінського
етанол 40 % достатня кількість для отримання 1 л настойки.

15 2. Засіб за з п. 1, який **відрізняється** тим, що як екстрагент використовують водно-спиртовий розчин з вмістом етанолу 40,0 % за об'ємом.

20 3. Засіб за будь-яким з пп. 1, 2, який **відрізняється** тим, що може бути використаний як лікарський препарат, а також як активна діюча речовина при одержанні лікарських та лікувально-косметичних препаратів у різних формах.

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

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