



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 83007

(13) U

(51) МПК

A61K 36/49 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 01778**

(22) Дата подання заявки: **13.02.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **27.08.2013**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **27.08.2013, Бюл.№ 16**

(72) Винахідник(и):

**Ярош Олександр Кузьмич (UA),
Кузнєцова Олена Василівна (UA),
Козир Віталій Анатолійович (UA),
Сімонова Ірина Володимирівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН
УКРАЇНИ",
вул. Ежена Потье, 14, м. Київ, 03680 (UA)**

**(54) ЗАСТОСУВАННЯ СУХОГО ЕКСТРАКТУ КАШТАНА КІНСЬКОГО, ЩО ПРОЯВЛЯЄ
АНТИАТЕРОСКЛЕРОТИЧНУ ТА АНТИТРОМБОТИЧНУ ДІЮ**

(57) Реферат:

Застосування сухого екстракту листя каштана кінського як об'єкта, що проявляє антиатеросклеротичну та антитромботичну дію при лікуванні гіперліпідемії та атеросклерозу.

UA 83007 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до біологічно активних речовин, що проявляють антиатеросклеротичну та антитромботичну дію.

В структурі причин атеросклеротичних змін, що розвиваються впродовж формування атероматозу судин у людей похилого віку, а останнім часом і в усе молодших вікових групах населення, виділяється сповільнення швидкості току крові, підвищення вмісту в плазмі тромбоутворюючих елементів крові та зменшення антитромботичних факторів, зростання вмісту клітинного складу та зменшення рідинної складової (згущення крові), що в цілому створює додаткові перешкоди для транспорту енергетичних матеріалів та окислювача - кисню. Це спричиняє постійний дефіцит енергозабезпечення тканин і за принципом зворотної дії підсилює негативні сигнали з тканин, які страждають від недостатку енергії, що породжує нові, підвищені стимули до посилення постачання енергією тканинних споживачів і формування замкненого "патологічного кола". Щоб запобігти його формуванню та сповільнити розвиток атеросклеротичного процесу, а також загальмувати деякі причини тромбоутворення, пропонується вирішити цю проблему за допомогою біологічно активних речовин, зокрема препаратів на основі каштана кінського.

Відомо, що біологічно активні речовини (БАР) з різних частин каштана кінського входять до багатьох лікарських засобів (ескузан, есфлазид, венітан, ескувен та інші). Зокрема, ескузан широко використовується для фармакотерапії симптомів хронічної венозної недостатності різного ґенезу (набряки, варикозне розширення вен, посттромботичний синдром, судоми литкових м'язів, трофічні зміни нижніх кінцівок та ін.) [2]. Експериментальними та клінічними дослідженнями доведені протизапальні і протинабрякові ефекти ескузану, здатність проявляти капіляророзміцнюючі властивості, нормалізувати вміст холестерину в крові, проявляти антиоксидантні властивості [3,5].

Такий широкий діапазон впливу на кров та її складові обумовлений наявністю в плодах та листі каштана кінського різних БАР: глікозидів (кверцетин, кемферол), кумаринових глікозидів (ескулін, фраксин), тритерпенових сапонінів - (есцин), флавоноїдів (похідні кверцетину і кемферолу), каротиноїдів (лютеїн, віолаксантин) та пектинових речовин.

Нами пропонується застосування сухого екстракту листа каштана кінського зі стандартизованим вмістом активних компонентів і сполук, що на відміну від нами вибраного прототипу - ескузану, знижує і нормалізує тромбоутворення та рівень загального холестерину, його атеросклеротичної фракції - ліпопротеїдів низької щільності при атеросклеротичній гіперліпідемії.

В основу корисної моделі поставлено задачу виявлення здатності сухого стандартизованого екстракту з листа каштана кінського (ССЕКК) викликати пригнічення гемостазу, зменшувати тромбоутворюючі властивості крові та нормалізувати рівень ліпідів в умовах експериментального атеросклерозу на прикладі тритонові моделі.

Поставлена задача вирішується шляхом використання ССЕКК в умовах тритонові моделі атеросклеротичної гіперліпідемії при одноразовому та 10-денному введенні.

Приклади конкретного виконання

Спосіб отримання засобу складається з екстракції розчином 70 % спирту етилового з подрібненої сировини (частки не більше 7 мм) листа каштана кінського.

Оптимальне співвідношення між масою сировини для приготування екстракту та об'ємом екстрагенту, складає 1:20, при тривалості екстракції 45 хв. при температурі 50° С.

Одержану витяжку відстоюють у темному приміщенні при температурі 10 °С протягом 3-4 діб. Після настоювання її фільтрують через скляний фільтр ПОР 100 та випаровують за допомогою вакуумно-ротаційного випарника при температурі не вище 60 °С. Згущену масу піддають вакуумній сушці при тій же температурі до максимально повного висушування і одержання сухого порошку зеленого кольору, гіркуватого смаку. Кількість та співвідношення активних БАР в сухому екстракті встановлюють за даними хроматографічного аналізу.

Вміст суми флавоноїдів і суми окислювальних фенолів в сухому стандартизованому екстракті каштана кінського повинен бути не менше 1,3 % і 20 % відповідно.

Новим в запропонованому винаході є те, що вперше пропонується сухий спиртовий екстракт з листа каштана кінського зі стандартизованим вмістом активних компонентів і сполук, який має антиатеросклеротичні та антитромботичні властивості.

Приклад 1. Вплив сухого екстракту каштана кінського на показники часу тромбоутворення у тварин.

Проведені експерименти та отримані результати (табл. 1) свідчать, що реологічні властивості крові в умовах розвитку атеросклеротичних змін суттєво погіршуються. Зокрема, значно скорочується час утворення згустка крові [4], що є одним з важливих показників підвищення можливості формування тромбів в судинах мозку, серця, легень, нирок і т.п.

Тромбози в основному є першопричиною і патогенетичним пусковим тригером розвитку інфарктів та інсультів в різних органах і найвищою причиною смертності та інвалідності [5].

- 5 Введення сухого стандартизованого екстракту каштана кінського в дозі 70 мг/кг маси лабораторним тваринам (мишам білим нелінійним) з підвищеним тромбоутворенням, викликаним атерогенним фактором (тритон WR-1339 в дозі 500 мг/кг), сприяло зменшенню показника тромбоутворюючої активності крові, обрахованому за тривалістю часу організації згустка крові з $56,0 \pm 2,6$ с до $84,0 \pm 10,4$ с (+ 50,0 %).

Таблиця 1

Динаміка змін тривалості тромбоутворення крові мишей
при дії ССЕКК в умовах модельованої гіперліпідемії, викликаній тритоном WR-1339

№ п/п	Серія дослідів	Самці $M \pm t$, с	%	Самки $M \pm t$, с	%
1	Контроль	$82,0 \pm 28,5$	0	$101,0 \pm 7,07$	0
2	Тритон WR-1339 500 мг/кг	$71,0 \pm 4,2$	-15,5	$56,0 \pm 2,6$	-44,8
3	Тритон WR-1339 750 мг/кг	$24,3 \pm 0,6^*$	-237,0	$45,7 \pm 3,9$	-54,9
4	Тритон WR-1339 500 мг/кг + екстр. каштана 70 мг/кг	$59,0 \pm 4,4^*$	-39,0 -20,3	$84,0 \pm 10,4$	-20,8 +50,0
5	Тритон WR-1339 750 мг/кг + екстр. каштана 70 мг/кг	$52,7 \pm 4,4^{**}$	-55,6 +117,9	$74,7 \pm 22,2$	-26,4 +63,5

Примітка: * - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками тварин контрольної групи;

** - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками тварин з модельованим атеросклерозом

- 10 Швидкість тромбоутворення (табл. 1) у самців і самок проявлялася по різному. Зокрема, у самців спостерігалася підвищена здатність деформування тромбів, про що свідчить час, необхідний для утворення згустка ($82,0 \pm 28,5$ с) в порівнянні з самками ($101,0 \pm 7,07$ с) - тобто цей процес відбувався швидше у самців, ніж у самок в середньому на 24,0 %.

- 15 В умовах дії атерогенного фактора (тритон WR-1339, 500 мг/кг) і формуванні середньої тяжкості реологічних змін час, необхідний для формування тромбів суттєво змінювався в обох групах тварин. Зокрема, в умовах модельованої гіперліпідемії, викликаній введенням тритону, зростала тенденція до прискореного згущення крові і тромбоутворення, про що свідчить скорочення часу для формування згустка як у самців, так і у самок. Однак у самок час на утворення тромба скорочувався майже вдвічі (на 44,8 %), в той час, як у самців це зменшення становило 15,5 %.

- 20 У самців ССЕКК викликав незначне скорочення часу утворення тромба в порівнянні як з часом у контрольних тварин ($59,0 \pm 4,4$ с, відносно $82,0 \pm 28,5$ с; - 39,0 %), так і з тривалістю тромбоутворення у самців з гіперліпідемією ($59,0 \pm 4,4$ с, відносно $71,0 \pm 4,2$ с, -20,3 % при $P < 0,05$). У самок ССЕКК викликав більші зміни в реологічних процесах крові, що проявлялося в подовженні часу утворення згустка в порівнянні з тим же показником у тварин на фоні викликаній гіперліпідемії. У тварин з гіперліпідемією час утворення згустка подовжився з $56,0 \pm 2,6$ с; до $84,0 \pm 10,4$ с при дії ССЕКК, тобто мав тенденцію до збільшення в середньому на 50,0 %.

- 30 Таким чином, ССЕКК викликав зміни тривалості часу тромбоутворення крові спрямовані на відновлення реологічних властивостей, порушених в умовах гіперліпідемії, при цьому його ефективність була вищою у самок, ніж у самців.

Приклад 2. Вплив ССЕКК на ліпідний спектр крові щурів при модельованій гіперліпідемії.

- 35 Дисліпідемію з розвитком гіперліпідемії та атеросклеротичних змін моделювали шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення детергенту тритону WR-1339 (Sigma, США) в дозі 500 мг/кг [8]. Курсове введення ССЕКК здійснювалось перорально протягом 10 діб одноразово в дозі 70 мг/кг. На 10-ту добу вводився тритон WR-1339, а через 23 години робили останню ін'єкцію ССЕКК. Проби змішаної (артеріальної та венозної) крові відбиралися через 1 год. після введення водного екстракту каштана кінського для дослідження вмісту основних ліпідів крові. Визначення здійснювали за допомогою біохімічного аналізатора Prestige 24i (Boeki machinery LTD, Японія). Реєстрували вміст загального холестерину (ЗХ), холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) та тригліцеридів (ТГ).

Таблиця 2

Зміна рівня фракцій ліпідів крові щурів при
10-денному введенні ССЕКК в умовах тритонові моделі атеросклерозу

Серія дослідів	Заг. холестерин, мМ/л	ЛПНЩ, мМ/л	Тригліцериди, мМ/л	ЛПВЩ, мМ/л
Контроль	1,42±0,06	0,13±0,04	0,97±0,13	0,53±0,02
Тритон, 500 мг/кг	14,17±0,46*	2,02±0,16*	19,77±0,41*	2,34±0,28*
% до контролю	+934	+1454	+1938	+342
Тритон, 500 мг/кг + ССЕКК, 70 мг/кг	11,61±0,69**	0,59±0,11**	21,02±0,09	1,84±0,09
% до контролю	+718	+354	+2067	+247
% до показників в умовах гіперліпідемії (тритон 500 мг/кг)	-18	-242	+6	-21

Примітки: * - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками тварин контрольної групи;

** - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками тварин з модельованим атеросклерозом

Результати, одержані і наведені в табл. 2, свідчать, що при курсовому введенні ССЕКК протягом 10 днів спостерігається позитивний вплив на порушений тритоном ліпідний спектр крові: зменшення рівнів основних атерогенних фракцій ліпідів, зокрема загального холестерину та холестерину ліпопротеїдів низької щільності. Так, вміст загального холестерину, який зростає в умовах гіперліпідемії до 14,17±0,46 мМ/л зменшувався під впливом курсового введення ССЕКК до 11,61±0,69 мМ/л, що в середньому становило зменшення на 18 % ($P < 0,05$).

Вміст найбільш атерогенної фракції, завдяки якій, як вважається [1,6], в основному і відбувається формування атероматозних утворень в судинах тварин - ліпопротеїдів низької щільності, під впливом курсового 10-денного введення ССЕКК зменшився майже в 2,5 разу в порівнянні з контролем (тритон WR-1339). Так, рівень ліпопротеїдів низької щільності в умовах гіперліпідемії підвищився до 2,02±0,16 мМ/л, а після курсового застосування ССЕКК - знизився до 0,59±0,11 мМ/л, тобто їх рівень став нижчим в середньому на 242 % ($P < 0,05$).

Вплив фітоекстракту на рівень ліпопротеїдів високої щільності також відзначився тенденцією до зниження в середньому на 21 % ($P > 0,05$), а рівень тригліцеридів практично не змінився в порівнянні з показниками у тварин контрольної групи (тритон WR-1339, + 6 % ($P > 0,05$)).

Таким чином, викладені результати свідчать про відносно вибірковий вплив сухого стандартизованого екстракту каштана кінського і його переважна ефективність в зниженні підвищених рівнів загального холестерину та ліпопротеїдів низької щільності викликаних введенням атерогенного фактора - тритону.

Висновок. Сухий стандартизований екстракт каштана кінського проявляє ефективну протидію підвищенню тромбоутворюючої здатності крові, особливо у самок, та зниженню гіперліпідемії за рахунок ліпопротеїдів низької щільності та загального холестерину в умовах модельованої гіперліпідемії.

Джерела інформації:

1. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз // СПб: Питер, 1995.-298 с.

2. Компендиум 2011 - лекарственные препараты/ Под. ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - К.: Морион, 2011.-2320 с.

3. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М.Гродзинський. - К.: Видавництво "Українська енциклопедія".-1992. - С. 104-105.

4. Методичні вказівки до практикуму з фізіології людини і тварин для студентів біологічних факультетів вищих навчальних закладів/Укл. М.Ю. Макачук, В.О. Цибенко та інш.- Київ: Фітосоціоцентр, 2003.-4 с.

5. Пересадко І.Г., Загайко А.Л., Половко Н.П. Дослідження гіполіпідемічної та антиоксидантної активності листя каштана кінського // Клінічна фармація.-2004. - №4. - С. 50-53.

6. Руковод. по кардиологии / Под ред. В.Н. Коваленко. - К.: Морион, 2008. - С. 138-144.

7. Скибчик В.А., Соломенчук Т.М. Тригліцериди і ризик розвитку ішемічної хвороби серця: сучасний стан проблеми // Укр. мед. часопис.-2006. - № 4(54). - С. 56-61.

8. Schurr P.E., Schulz J.R., Parkincon T.N. Triton-induced hyperlipidemia in rats as an animal model for screening hyperlipidemic drugs // Lipids.-1972.-V.7, № 1.-P.68-72.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Застосування сухого екстракту листя каштана кінського як об'єкта, що проявляє антиатеросклеротичну та антитромботичну дію при лікуванні гіперліпідемії та атеросклерозу.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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