



УКРАЇНА

(19) UA (11) 94138 (13) C2

(51) МПК (2011.01)
A61K 35/64 (2011.01)
A61K 31/194 (2011.01)
A61K 9/08 (2011.01)
A61P 39/00
A61P 25/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ЗАСІБ У ФОРМІ СИРОПУ З АНТИСТРЕСОВОЮ ТА АКТОПРОТЕКТОРНОЮ ДІЄЮ

1

2

(21) a200907067

(22) 06.07.2009

(24) 11.04.2011

(46) 11.04.2011, Бюл.№ 7, 2011 р.

(72) ТИХОНОВ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ, УНГУРЯН ЛІАНА МИХАЙЛІВНА, ГРАЩЕНКОВА СВІТЛАНА АНАТОЛІЇВНА, ЗУБЧЕНКО ТАМАРА МИКОЛАЇВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ТИХОНОВ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ

(56) RU 2238757 C1, 27.10.2004

RU 2104013 C1, 10.02.1998

RU 2303988 C1, 10.08.2007

RU 2202229 C2, 20.04.2003

UA 62577 C2, 15.12.2003

UA 40699 U, 27.04.2009

Missima F, Sforzin JM. GREEN BRAZILIAN PROPOLIS ACTION ON MACROPHAGES AND LYMPHOID ORGANS OF CHRONICALLY STRESSED MICE // Evid Based Complement Alternat Med. 2008 Mar;5(1):71-5.

UA 200805512 A, 25.06.2009

UA 29374 C1, 15.11.2000

(57) 1. Лікувально-профілактичний засіб у формі сиропу з антистресовою та актопротекторною дією з вмістом меду і препарату прополісу, який **відрізняється** тим, що містить мед натуральний порошкоподібний та водний витяг з прополісу і додатково - кислоту бурштинову та сорбіт при співвідношенні компонентів (мас %):

мед натуральний порошкоподібний	0,45-0,55
кислота бурштинова	0,9-1,1
сорбіт	63,0-65,0
водний витяг з прополісу	решта.

2. Засіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вміст фенольних сполук прополісу у 15 мл сиропу складає не менше 0,675 мг.

3. Засіб за п. 1 або 2, який **відрізняється** тим, що містить компоненти при наступному співвідношенні (мас %):

мед натуральний порошкоподібний	0,5
кислота бурштинова	1,0
сорбіт	64,0
водний витяг з прополісу	решта.

Винахід відноситься до фармації та медицини, а саме до лікувально-профілактичних засобів з антистресовою та актопротекторною дією, виконаних у формі сиропу з вмісту продуктів бджільництва, і може бути використаний при лікуванні синдрому хронічної втоми.

Ріст таких факторів, як підвищення напруженості способу життя, збільшення стресових ситуацій, погіршення екологічних умов у зв'язку з забрудненням навколишнього середовища, підвищення радіаційного фону та інших впливів, які знижують неспецифічну резистентність організму людини, визначають проблему її фармакологічної корекції

як одну з важливих та актуальних для сучасної медицини.

Фармакологічна корекція неспецифічної резистентності може здійснюватись на різних рівнях, як для запобігання стомлення при тяжких фізичних та розумових навантаженнях, так і для прискорення процесів відновлення, тобто підвищення адаптаційних можливостей та витривалості у різних екстремальних умовах.

Лікарські засоби, які використовуються для цього, відрізняються механізмами фармакологічної дії. Проте найбільш фізіологічними вважаються засоби, які відповідають щонайменше наступним

(13) C2

(11) 94138

(19) UA

вимогам: не мають побічної дії та не викликають звикання, тобто засоби природного походження.

У практичній медицині з метою одержання антистресового та актопротекторного ефекту використовують звичайно декілька препаратів (заспокійливі, тонізуючі, загальнозміцнюючі, такі, що впливають на центральну нервову систему тощо), що є не завжди доцільно, враховуючи сумарну побічних дій кожного з препаратів. Актуальним є створення комплексного нетоксичного засобу з широким спектром дії.

У сучасному арсеналі лікарських засобів чільне місце посідають препарати у формі сиропів. Така лікарська форма зручна у використанні для пацієнтів різного віку, тих, хто не в змозі ковтати пігулки. Сиропи є смачними і, головне, забезпечують швидке засвоєння діючих речовин при вживанні.

Нажалі фармацевтичні препарати з антистресовою або актопротекторною дією здебільшого випускаються у твердих лікарських формах і мають синтетичне походження.

Існує ряд засобів у формі сиропів на основі рослинних компонентів відомих як біологічно активні добавки зі загальнозміцнюючою або тонізуючою дією: сироп лимонника, сироп облепиховий, сироп з женьшенем [1].

Проте ці засоби мають вузький спектр дії, чинять м'який вплив на організм і не є лікарськими препаратами.

Відомий лікарський засіб, що має антивірусну та антимікробну активність [2], виконаний у формі сиропу з вмістом фенольного гідрофільного препарату прополісу (0,4-0,55 мас %), меду натурального (10,0-30,0 мас %), цукру (35,0-54,0 мас %) та води очищеної.

Недоліком відомого засобу можна вважати високий вміст цукру та меду, що є неприйнятним для хворих на цукровий діабет, осіб, які додержуються дієти тощо. Крім того даний засіб немає вираженої антистресової та актопротекторної дії.

Завданням винаходу є створення нового засобу у формі сиропу з вмістом продуктів бджільництва, який завдяки вибору оптимальних компонентів та їх кількісних значень забезпечує виражений антистресовий та актопротекторний ефект при лікувальному та профілактичному застосуванні, причому засіб не містить цукру, є нетоксичним і не викликає звикання.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що лікувально-профілактичний засіб у формі сиропу з антистресовою та актопротекторною дією з вмістом меду і препарату прополісу, згідно з винаходом містить сублімований натуральний мед у вигляді порошку, а в якості препарату прополісу - водний витяг з прополісу, крім того передбачено додатковий вміст у засобі кислоти бурштинової та сорбіту при загальному співвідношенні компонентів (мас %):

мед натуральний порошкоподібний	0,45-0,55
кислота бурштинова	0,9-1,1
сорбіт	63,0-65,0
водний витяг з прополісу	решта

Винаходом передбачено, що вміст фенольних сполук прополісу у 15 мл сиропу складає не менше 0,675 мг.

Оптимальний варіант заявленого засобу має наступний склад (мас %):

мед натуральний порошкоподібний	0,5
кислота бурштинова	1,0
сорбіт	64,0
водний витяг з прополісу	решта

Введений до складу засобу мед натуральний порошкоподібний [ТУ.У 1508-02010936-001:2007] є стандартизованою лікарською субстанцією на відміну від звичайного натурального меду, склад біологічно активних речовин якого варіюється у залежності від багатьох факторів: місцевості, виду медоносних рослин, кліматичних умов та ін.

Експериментальним шляхом було визначено кількісний інтервал значень вмісту меду натурального порошкоподібного (0,45-0,55 мас %), який обумовлює приємний смак сиропу, підвищує фармакологічну дію засобу і при цьому є невисоким.

Оптимальний вміст меду натурального порошкоподібного у складі заявленого засобу дорівнює 0,5 мас %.

Вибір кислоти бурштинової в якості одного з активних компонентів обумовлений її здатністю до регуляції енергетичного обміну в організмі [3]. Підтримка резистентності організму в першу чергу залежить від стану системи енергопродукції. Одним із відомих шляхів фармакологічної регуляції останньої є використання регуляторів енергетичного обміну, зокрема кислоти бурштинової як окремо, так і в комбінації з природними засобами, які містять багатий склад БАР, що здатні оптимізувати в організмі людини енергозабезпечуючі процеси. Таке поєднання дає змогу всебічно корегувати порушений гомеостаз організму та підвищувати його адаптивні резерви.

Експериментально визначений інтервал значень вмісту кислоти бурштинової у складі заявленого засобу (0,9-1,1 мас %) дозволяє найкращим чином реалізувати її корисні властивості. Оптимальний вміст - 1,0 мас %.

Сорбіт як компонент заявленого засобу виконує роль заміника цукру, гущувача та співрозчинника і забезпечує необхідні органолептичні властивості сиропу. Сироп на основі сорбіту можуть вживати особи, яким протипоказаний цукор.

Вміст сорбіту в інтервалі 63,0-65,0 мас % (переважно 64,0 мас %) є необхідним і достатнім для оптимального поєднання смакових, органолептичних і технологічних властивостей сиропу заявленого складу.

Введений до складу засобу водний витяг прополісу одержують за відомою технологією [4] шляхом обробки прополісу-сирцю водою при температурі 50-100°C при співвідношенні 1:2-1:10 з відокремленням водного витягу. Останній стандартизують за вмістом фенольних сполук. Згідно з винаходом вміст фенольних сполук у 15 мл сиропу складає не менше 0,675 мг.

Водний витяг з прополісу у заданій кількості забезпечує необхідну фармакологічну дію заявленого засобу та виконує роль співрозчинника.

Лікувальний ефект заявленого засобу значною мірою обумовлений загальнозміцнюючими і тонізуючими властивостями водного витягу з прополісу. Дослідження довели, що він активізує функції багатьох захисних механізмів організму.

Зі свого боку мед натуральний покращує життєдіяльність людини при фізичному та розумовому виснаженні, має заспокійливу дію, покращує травлення, функцію дихальної, серцево-судинної та інших систем організму.

Сумісне використання водного витягу з прополісу та меду обумовлює їх полівалентну дію на живий організм.

Компоненти заявленого засобу дозволені до використання у фармації та медицині, проте вибір компонентів та їх кількісних значень дозволяє саме у таких інтервалах одержати новий результат - засіб з антистресовою та актопротекторною дією - і є невідомим з джерел інформації.

Заявлений засіб одержують наступним чином.

Відважують у необхідній кількості компоненти засобу. До водного витягу прополісу додають при перемішуванні та нагріванні сорбіт. До розчину сорбіту додають послідовно кислоту бурштинову та мед натуральний порошокподібний, перемішують до одержання прозорого розчину, проціджують і фільтрують.

Одержують готовий сироп у вигляді в'язкої рідини жовтаво-коричневого кольору із запахом прополісу та солодким смаком. Термін придатності - 2 роки.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1.

65,0 л водного витягу з прополісу нагріли у реакторі до температури 60°C.

До реактору додали 70,4 кг сорбіту (у кількості з урахуванням коефіцієнту збільшення об'єму розчину), при перемішуванні і продовжили нагрівати до температури 95°C продовж 1 год. до повного розчинення сорбіту. Вміст реактору охолодили до температури 60°C і додали 1,1 кг кислоти бурштинової при перемішуванні до повного розчинення. Розчин охолодили при перемішуванні до 40°C і додали 0,55 кг меду натурального порошокподібного. Розчинення проводили при перемішуванні до прозорого розчину. Оцінку вели візуально. Після чого сироп у реакторі охолодили до температури 25-30°C, процідили крізь два шари марлі, пропустили крізь патронний фільтр із полімерних волокон із розміром пір 20 мкм, передали на фасування і пакування. Одержали 110 л сиропу заявленого складу.

Приклад 2.

Дослідження гострої токсичності заявленого сиропу проводили при внутрішньошлунковому шляху введення дослідним тваринам.

В експериментах було використано 12 статевозрілих щурів самиць масою тіла 160-180 г. Кожна експериментальна група налічувала 6 тварин.

Досліджуваний засіб вводили одноразово у дозі 5000 мг/кг. Тварини групи контролю внутрішньошлунково отримували розчинник у аналогічному режимі.

Термін спостереження за тваринами при вивченні гострої токсичності, згідно з методичними рекомендаціями [5] склав два тижні.

Після внутрішньошлункового введення досліджуваного сиропу у дозі 5000 мг/кг у щурів ознак інтоксикації не спостерігали: тварини були охайними, активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена.

Як свідчать експериментальні дані, внутрішньошлункове введення заявлено засобу у формі сиропу у дозі 5000 мг/кг не викликає загибель щурів.

Результати вивчення гострої токсичності дозволяють віднести заявлений засіб при внутрішньошлунковому введенні до V класу токсичності - до практично нетоксичних речовин (ЛД₅₀>5000 мг/кг) [6].

Приклад 3.

Антистресову дію заявленого засобу вивчали на моделі нервово-м'язового напруження за Сельє [4]. З метою усунення впливу коливань гормонального фону дослідження проводили на білих нелінійних щурах самцях 180-200 г. Тварини були розподілені на 3 групи по 8 голів. Перша - група інтактних тварин (ІК). Друга група - тварини контрольної патології (КП). Тварини третьої групи внутрішньошлунково отримували заявлений сироп у дозі 3 мл/кг.

Досліджуваний засіб вводили протягом чотирьох тижнів до експозиції стресу. Тварини групи контрольної патології отримували еквівалентний об'єм дистильованої води. Групу інтактних тварин стресовому впливу не піддавали. Стрес моделювали шляхом 3-й годинної іммобілізації щурів на спині на операційному століку атравматичним фіксуванням за кінцівки. Враховуючи, що стадія тривоги припадає на перші 12 годин від початку стресу, оцінку антистресової дії заявленого засобу проводили через дві години після завершення дії стресорного фактору. Для цього тварин декапітували під легким ефірним наркозом та забирали біологічний матеріал для визначення біохімічних показників. Загальносоматичними показниками антистресової дії засобу були визначені коефіцієнт маси наднирникових залоз (КМНЗ) і тимусу (КМТ), ступінь виразкоутворення у шлунку (площа виразок).

Дані наведені у табл. 1.

У сироватці крові тварин визначали такі біохімічні показники: піровиноградна кислота (ПВК) у реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном, показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та стану антиоксидантної системи (АОС): ТБК-активні продукти (ТБК-АП) та відновлений глутатіон (ВГ) визначали у гомогенатах печінки.

Визначали також рівень глікогену у печінці, вміст глюкози та білку у сироватці крові. Дані наведені у табл. 2, табл. 3.

Таблиця 1

Вплив заявленого засобу на масові коефіцієнти органів тварин та утворення виразок шлунку на моделі гострого стресу

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сироп
Печінка	2,99±0,06	3,41±0,14*	2,92±0,09**
Наднирники	0,044±0,003	0,043±0,004	0,044±0,001
Тимус	0,192±0,024	0,215±0,022	0,171±0,023
Площа виразок, у балах	0,00 (0-0)	0,25 (0÷0,5)*	0,00 (0÷0)**

Примітки: 1. * - відхилення вірогідні щодо значень групи інтактного контролю, $p < 0,05$;

2. ** - відхилення вірогідні щодо значень групи контрольної патології, $p < 0,05$;

Таблиця 2

Вплив заявленого засобу на біохімічні показники у сироватці крові на моделі гострого стресу

Групи тварин	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сироп
Глюкоза, ммоль/л	4,86±0,17	5,55±0,56	5,63±0,41
Загальні ліпіди, г/л	2,78±0,05	2,67±0,07	2,76±0,06
ПВК, ммоль/л	0,129±0,008	0,134±0,006	0,150±0,006
Загальний білок, г/л	66,62±1,03	60,37±2,00*	63,70±2,30

Примітки: 1. * - відхилення вірогідні щодо значень групи інтактного контролю, $p < 0,05$;

2. ** - відхилення вірогідні щодо значень групи контрольної патології, $p < 0,05$;

Таблиця 3

Вплив заявленого засобу на біохімічні показники у гомогенаті печінки на моделі гострого стресу

Групи тварин	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сироп
Глікоген, мкг/100 г	212,7±29,9	203,5±49,34	182,2±58,4
ВГ, мкмоль/л	7,81±0,55	6,73±0,36 Т*	5,54±0,12*/**
ТБК-АП, мкмоль/г	79,88±8,38	105,16±9,84*	51,40±4,82*/**

Примітки: 1. * - відхилення вірогідні щодо значень групи інтактного контролю, $p < 0,05$;

2. ** - відхилення вірогідні щодо значень групи контрольної патології, $p < 0,05$;

За даними наведених таблиць у групі тварин, що одержували заявлений засіб, в умовах гострого стресу спостерігалася сталість вуглеводного, білкового та ліпідного обміну, відсутність виразок у шлунку та нормальний масовий коефіцієнт печінки, що дає можливість стверджувати про наявність у засобу достовірної антистресової дії у порівнянні з групою контрольної патології.

Приклад 4.

Дослідження актопротекторної дії (здатності підвищувати фізичну працездатність та витривалість) заявленого засобу проводили у досліді примусового плавання щурів з навантаженням. Плавання здійснювали у ванні з товщиною шару води не менш 60 см у прокип'яченій воді при термонейтральній температурі води $+32 \pm 2^\circ\text{C}$. Кожного щура поміщали в окремий відсік. Навантаження (набір металевих кілець) складало 10 % від маси тіла, його прикріплювали до хвоста тварини за допомогою еластичного гумового кільця. Критерієм повного стомлення було 10-ти секундне перебування тварин під водою. Спочатку тварин піддавали процесу адаптації до плавальної проби у трикратному тренувальному циклі, під час якого вони через

день плавали протягом однієї години. Після адаптації до плавання відбирали тварин, придатних до виконання вправ, і піддавали тестуванню вихідного рівня (час плавання до повного стомлення) працездатності з навантаженням, яке складало 10 % від маси тіла. За підсумками визначення вихідної працездатності формували дослідні групи (по 12 тварин у кожній).

Були сформовані групи: 1-група тварин (тренований контроль, ТК), що піддавалися тренуванню та отримували дистильовану воду; 2-група тварин, що піддавалися тренуванню та отримували внутрішньошлунково за годину до плавання досліджуваній сироп у дозі 3 мл/кг.

У подальшому для підтримки адаптаційних пристосувальних реакцій до навантаження плаванням, усі тварини через день виконували роботу, що складала 50 % від тривалості плавання за результатами останнього тестування (з відповідним навантаженням 10 % від маси тіла). На 28 добу у щурів обох груп проводили визначення часу плавання до повного стомлення у хвилинах. Визначення актопротекторного ефекту проводили у порівнянні з групою ТК.

Визначення актопротекторної активності (АА) досліджуваного засобу проводили на підставі змін показників витривалості до фізичного навантаження за формулою: АА - актопротекторна активність у %, яку розраховували за формулою: $AA = (tk -$

$td) / tk \times 100$ %, де tk - середня тривалість плавання тварин групи тренованого контролю; td - середня тривалість плавання тварин на тлі введення заявленого засобу. Дані дослідів наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

Вивчення актопротекторної активності заявленого засобу

Показники	Тренований контроль	Сироп
Тривалість плавання, хв.	103,30±6,01	136,50±6,88 **
Актопротекторна активність, %	-	32

Примітка. ** - відхилення вірогідне щодо значень групи тренованого контролю, $p < 0,05$.

Отримані результати наведені у таблиці 4, свідчать про достовірну актопротекторну дію заявленого засобу.

Приклад 5.

Для оцінки впливу заявленого засобу на функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) використовували загальноприйнятий у експериментальній токсикології інтегральний тест "відкрите поле" [7], який проводили на початку

дослідів (вихідні дані) та через 24 години після виснажливого плавання (за аналогією з дослідом у прикладі 4).

Вивчення поведінкових реакцій щурів цим методом дозволяє визначити ступінь впливу досліджуваного препарату на рухову, орієнтовно-дослідницьку й емоційну активності тварин. Дані дослідів наведені у табл. 5.

Таблиця 5

Вплив заявленого засобу на стан ЦНС в умовах фізичного навантаження

Показники	Вихідні дані	Тренований контроль	Сироп
Кількість перетинань	20,58±1,93	7,83±2,20 *	9,33±2,96 *
Кількість вертикальних стійок	4,00±0,79	0,33±0,21 *	1,67±0,76 *
Кількість заглядань у нірки	6,47±0,90	2,67±1,20 *	7,33±1,36 **
Кількість дефекацій	1,26±0,40	1,00±1,00	4,33±1,38 */**
Кількість умивань	0,68±0,23	0,00±0,00 *	0,50±0,22 **
Кількість умивань	0,21±0,12	0,50±0,34	1,50±0,67
Сума активностей	33,21±2,67	12,33±3,21 *	24,67±5,28 **

Примітки: 1. * - відхилення вірогідні щодо значень вихідних даних, $p < 0,05$

2. ** - відхилення вірогідні щодо значень групи тренованого контролю, $p < 0,05$.

Як свідчать отримані результати, у тварин з групи тренованого контролю через 24 години після виснажливого навантаження спостерігалось зниження функціональної активності ЦНС, що виявилось вірогідним зниженням показника сумарної активності (12,33 проти 33,21) щодо вихідних даних.

Результати дослідження впливу заявленого засобу на стан ЦНС за умов стресового впливу, яким було виснажливе фізичне навантаження, свідчать про його здатність сприяти підвищенню пригніченої активності ЦНС.

Таким чином заявлено новий лікувально-профілактичний засіб у формі сиропу з антистрессовою та актопротекторною дією, що містить компонент природного походження, є нетоксичним, придатним до тривалого вживання. Засіб може бути рекомендованим для фармакологічної корекції широкого переліку захворювань, обумовлених стресами, несприятливими екологічними умовами тощо.

Заявлений засіб одержують за простою технологією без використання спеціального обладнання, його випуск може бути налагоджений на будь-якому хіміко-фармацевтичному виробництві.

Джерела інформації:

1. Российский регистр БАД. Энциклопедия Биологически активных добавок. Москва, ООО издат. «Новая волна», 2003, с. 339.

2. Декларацийний патент на винахід 28428А, Україна, МПК 6 А61К35/78, заявл. 10.02.1997, опубл. 16.10.2000, Бюл. № 5.

3. Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты / Под. ред. В.А. Хазанова. - Томск: Изд-во Том. Ун-та, 2003. - 110 с.

4. Патент на винахід 55059, Україна, МПК 7 А61К35/64, заявл. 19.06.2002, опубл. 17.01.2005, Бюл. № 1.

5. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. - Київ, 2001. - с. 457-471.

6. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. - М., 1973. - В. 13. - с. 47-57.

7. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. - 2001. - 320 с.