УКРАЇНА

(19) UA (11) 123718 (13) U

(51) МПК (2018.01)
A61K 9/00
A61K 36/00
A61P 7/00

МІНІСТЕРСТВО ЕКОНОМІЧНОГО РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 07859**

(22) Дата подання заявки: **27.07.2017**

(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **12.03.2018**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **12.03.2018, Бюл.№ 5**

(72) Винахідник(и):
Марчишин Світлана Михайлівна (UA),
Гудзь Надія Анатоліївна (UA),
Васенда Мар'яна Миколаївна (UA),
Волощук Наталія Іванівна (UA)

(73) Власник(и):
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ",
вул. Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001 (UA)

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ РОСЛИННОЇ СУБСТАНЦІЇ З ГІПОГЛІКЕМІЧНОЮ ДІЄЮ

(57) Реферат:

Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з гіпоглікемічною дією включає технологічний етап екстрагування, причому як рослинну сировину використовують листя стевії (Stevia rebaudiana), яку екстрагують гарячою водою очищеною (t - 80-90 °C) протягом доби з періодичним перемішуванням, причому сировину попередньо обробляють 96 % етанолом, одержану витяжку фільтрують та упарюють у вакуумному роторному випарнику до отримання сухого екстракту.

UA 123718 U

Корисна модель належить до фармації і медицини, а саме до способів одержання комплексу біологічно активних речовин з лікарської рослинної сировини, що проявляє гіпоглікемічну дію, і може використовуватися для корекції рівня глюкози в крові при лікуванні захворювань, які пов'язані з порушенням обмінних процесів.

В офіційній та народній медицині для лікування цукрового діабету часто використовують цукрознижувальні засоби, харчові добавки на рослинній сировині, оскільки фітопрепарати характеризуються низькою токсичністю і можуть бути суттєвим доповненням до фармакотерапії цукрового діабету [1]. Вітчизняний ринок гіпоглікемічних засобів рослинного походження обмежений, що зумовлює пошук нової лікарської сировини цукрознижувальної дії та створення на її основі лікарських засобів для лікування та профілактики цукрового діабету.

Відомим офіціальним збором для лікування та профілактики цукрового діабету є "Арфазетин" [2], до складу якого входять: плоди шипшини, трава звіробою, стулки плодів квасолі звичайної, трава хвоща польового, квітки ромашки аптечної, кореневища і корені елеутерококу колючого, пагони чорниці звичайної. Недоліком даного засобу є незручність дозування при готуванні відвару хворими, а також при довготривалому застосуванні можуть виникати печія та алергічні реакції.

Також є відомий спосіб одержання гіпоглікемічного засобу з листя кизилу [3]. За даним способом проводять послідовну екстракцію сировини 50 % етанолом, а потім водою очищеною з додатковим очищенням водної витяжки та подальшим об'єднанням екстрактів і їх упарюванням. Недоліком даного способу є використання нестандартної сировини.

Задачею корисної моделі є розширення асортименту лікарських засобів рослинного походження з гіпоглікемічною дією та створення нового засобу заданої дії з листя стевії (Stevia rebaudiana), який може бути використаний як субстанція при розробці засобів у різних лікарських формах для використання у медицині.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити технологічні прийоми одержання рослинної субстанції, спрямованої на максимально повне вилучення біологічно активних речовин із рослинної сировини.

При вирішенні технічної задачі було взято до уваги те, що застосування водного екстрагування обробленої 96 % етанолом рослинної сировини, а також подальше висушування отриманої витяжки приводить до отримання сухої субстанції з високим вмістом біологічно активних речовин. Знежирювання рослинної сировини 96 % етанолом дозволило звільнити водну витяжку від баластних речовин та слизу.

У ході попередніх досліджень, з метою вибору оптимального екстрагенту для вилучення комплексу біологічно активних речовин з листя стевії (Stevia rebaudiana) нами досліджувався ряд розчинників, а саме: гаряча вода очищена (попередньо знежирювали сировину 96 % етанолом), гаряча вода очищена (t-80-90 °C) та 20 % етанол; спектрофотометричним методом визначали в кожній із одержаних витяжок кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, фруктанів та поліфенольних сполук, а також гравіметричним методом - екстрактивних речовин. Шляхом підбору нами було встановлено, що для отримання фітосубстанції з листя стевії (Stevia rebaudiana) з найбільш повним вилученням екстрактивних речовин, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, фруктанів і поліфенольних сполук оптимальним є використання як екстрагенту гарячої води очищеної при попередній обробці рослинної сировини 96 % етанолом.

Також у ході комплексного фітохімічного дослідження листя стевії (Stevia rebaudiana) нами був встановлений якісний склад і визначено кількісний вміст біологічно активних речовин - амінокислот, органічних кислот, комплексу фенольних сполук (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин), полісахаридів, ефірних та жирних олій.

Спосіб отримання рослинної субстанції з гліпоглікемічною дією, зокрема з листя стевії (Stevia rebaudiana), включає технологічний етап екстрагування гарячою водою очищеною протягом доби при періодичному перемішуванні, причому подрібнену рослинну сировину попередньо змочують 96 % етанолом. Отриманий витяг зливають, фільтрують та згущують, з подальшим висушування у вакуумному роторному випарнику до отримання сухої субстанції.

Співвідношення "сировина:екстрагент" становить 1:8, що є необхідним і достатнім для здійснення процесу екстракції.

Спосіб здійснюють наступним чином. Подрібнену до розміру частинок, які проходять крізь сито з діаметром отвору № 11200 (з максимальним допуском для отвору 0,77 мм), рослинну сировину оброблять етанолом 96 %, залишають на 15 хв при кімнатній температурі. Потім сировину заливають гарячою водою очищеною (t - 80-90 °C) у співвідношенні 1:8, настоюють протягом 24 год. при кімнатній температурі, періодично перемішуючи. Водну витяжку зливають та фільтрують крізь паперовий фільтр. Згущують і висушують на роторному вакуумному випарнику до отримання сухої субстанції (втрата в масі при висушуванні складає 3,26 %).

Приклад 1

100 г подрібнених до розміру частинок, які проходять крізь сито з діаметром отвору № 11200, повітряно-сухого листя стевії (Stevia rebaudiana) змочували 96 % етанолом і залишали на 15 хв при кімнатній температурі для знежирення сировини. Потім оброблену сировину переносили в перколятор і заливали 800 мл гарячої води очищеної (t - 80-90 °С), настоювали протягом 24 год. при кімнатній температурі при періодичному перемішуванні. Одержану водну витяжку фільтрували крізь паперовий фільтр, згущували до 1:5 об'єму шляхом упарювання при температурі 80-90 °С. Згущену водну витяжку висушували на роторному вакуумному випарнику до сухого порошку (втрата в масі при висушуванні становила 3,26 %).

Отриманий готовий продукт - сухий екстракт - кристалічний порошок темно-коричневого кольору із зеленуватим відтінком, зі специфічним запахом, солодкий на смак, розчинний у холодній воді, малорозчиний у 96 % етанолі.

Приклад 2

Дослідження гіпоглікемічною дії сухого екстракту з листя стевії (Stevia rebaudiana) проводили на 35 білих нелілійних самицям щурах масою 250-295 г. Тварини для експерименту розподілили на 5 груп по 7 тварин у кожній (n = 7). Перша група тварин була контрольною (інтактний контроль - ІК), другу групу склали тварини, яким підшкірно вводили розчин дексаметазону (KRKA, Словенія) у дозі 0,125 мг/кг 1 раз на добу (контрольна патологія - КП); третю групу склали тварини, які отримували водний розчин екстракту листя стевії в дозі 250 мг/кг внутрішньошлунково 1 раз на добу на фоні КП; четверту та п'яту групи склали тварини, що на фоні КП отримували препарати порівняння: метформін у вигляді таблеток "Сіофор" БЕРЛІН-ХЕМІ АГ (МЕНАРІНІ ГРУП) та офіцинальний рослинний збір "Арфазетин" (ПрАТ "Віола", Україна) у дозах 100 мг/кг та 9 мл/кг відповідно, які водили в аналогічних режимах. Рівень глікемії вимірювали глюкометром BION1ME серії Rightest GM 550 (Швейцарія). Усі тварини утримувались в стандартних умовах віварію (природне чергування світла і темряви, температура повітря 21+2 °С, відносна вологість 55-70 %) і отримували повнораціонний гранульований корм для щурів 4 рази на добу та питну воду без обмежень (годування припиняли за 12 год. до забору крові для визначення глікемії).

Вміст глюкози в крові визначали на 1 добу (вихідний рівень, до введення дексаметазону), а також на 7-му та 14-ту добу експерименту.

Результати визначення глікемії щурів усіх груп та аналіз одержаних даних наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Гіпоглікемічна активність сухого екстракту листя стевії на моделі дексаметазонової гіперглікемії у щурів (M+m, n=7)

Група тварин	Динаміка середньої глікемії у щурів				
	Вихідний	На 7-му добу		На 14-ту добу	
	рівень, ммоль/л	Глікемія ммоль/л	Різниця відносного вихідного рівня, %	Глікемія ммоль/л	Різниця відносного вихідного рівня, %
Інтактний контроль	5,03±0,08	5,00±0,1	-0,57	5,09±0,07	+ 1,14
Контрольна патологія	4,59±0,13	6,04±0,21	+31,78#	6,43±0,17	+40,19#
КП+ екстракт стевії, 250 мг/кг	4,63±0,2	5,26±0,22.	+ 13,57*	6,13±0,13.	+32,41
КП+метформін, 100 мг/кг	5,07±0,14	5,83±0,18.	+ 14,93*	6,14±0,28.	+21,13*
КП+арфазетин, 9 мл/кг	4,46±0,20	5,70±0,22.	+27,88#	6,21±0,06.	+39,42#

Примітки:

1. • - статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно вихідного рівня в кожній групі
2. * статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно контрольної патології (дексаметазону без корекції)
3. # - статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно метформіну

Результати досліджень показали достовірне відносно контролю підвищення базального (після 12-ти годинного голодування) рівня глюкози крові щурів КП, на 7 добу (6,04±0,21 ммоль/л) та на 14 добу (6,43±0,17 ммоль/л) відносно нормального вихідного рівня (4,59±0,13 ммоль/л).

Тварини ІК характеризувались нормальним рівнем глікемії як на початку експерименту, так і в процесі дослідження.

У щурів, які на фоні підшкірного введення дексаметазону отримували водний розчин сухого екстракту листя стевії у дозі 250 мг/кг перорально, рівень глікемії до кінця експерименту був нижчий від показників КП як на 7, так і на 14 добу, що характеризує позитивний вплив досліджуваної субстанції на вуглеводний обмін за умов моделювання патологічного стану, а саме -порушення толерантності до глюкози під впливом хронічного введення великих доз глюкокортикоїдного препарату. Так, на 7-му добу експерименту у тварин цієї групи середній рівень глікемії зріс на 13,57 % відносно вихідного і становив (5,26±0,22) ммоль/л, що на 18,21 % нижче, ніж динаміка зростання рівня глюкози крові в групі щурів КП, де рівень глюкози зріс на 31,78 % відносно вихідного. На 14-ту добу експерименту середнє значення глікемії у щурів, які отримували досліджуваний екстракт на фоні КП, становив (6,13±0,13) ммоль/л; зростання рівня глюкози крові відносно вихідного у щурів даної групи становило + 32,41 % і було на 7,72 % меншим у порівнянні з щурами КП (в цій групі рівень глюкози наприкінці експерименту зріс на 40,19 % порівняно з вихідним).

На 7-му добу експерименту у тварин, яким вводили відвар збору "Арфазетин", середній рівень глікемії зріс на 27,88 % відносно вихідного і становив (5,70±0,22) ммоль/л, що лише на 3,90 % був нижчий, ніж на 7-му добу експерименту у тварин цієї групи середній рівень глікемії зріс на 13,57 % відносно вихідного і становив (5,26±0,22) ммоль/л, що на 18,21 % нижче, ніж динаміка зростання рівня глюкози крові в групі щурів КП, де рівень глюкози зріс на 31,78 % відносно вихідного. Екстракт листя стевії на фоні КП у порівнянні з референтним "Арфазетином" знижував рівень глікемії на 14,31 % на 7 добу і на 7,01 % на 14 добу.

На 7 добу експерименту середнє значення глікемії у щурів, які отримували референс-препарат метформін на фоні КП, становило (5,83±0,18) ммоль/л, і зростання рівня глюкози крові відносно вихідного у щурів даної групи складало ± 14,93 %, що було на 16,85 % меншим у порівнянні з щурами КП і на лише на 1,36 % у порівнянні зі щурами, яким на фоні КП вводили екстракт стевії. На 14 добу зростання рівня глюкози крові відносно вихідного у щурів, яким вводили метформін складало +21,13 %, що було на 19,06 % меншим у порівнянні з щурами КП. Зростання рівня глюкози крові відносно вихідного у щурів, яким вводили екстракт стевії, становив + 32,41 %, що було на 11,28 % вищим, ніж у тварин, яким вводили метформін.

Отже, застосування водного розчину сухого екстракту листя стевії сприяло достовірному підвищенню толерантності до глюкози в експерименті на щурах при моделюванні хронічної дексаметазонової гіперглікемії.

Таким чином, отримана за запропонованим способом рослинна субстанція у вигляді сухого екстракту листя стевії є перспективною для створення і застосування лікарських засобів з достатньо вираженою гіпоглікемічною дією.

Джерела інформації:

1. Ефимов А.С. Фитотерапия ожирения и сахарного диабета // А.С. Ефимов, А.В. Щербак. - К.: Наукова думка, 1993. - 96 с.

2. Мерецька І.В. Вплив нового гіпоглікемічного рослинного збору на стан імунного статусу при цукровому діабеті / І.В. Мерецька // Таврический медико-биологический вестник. - 2012. - Т. 15, №4 (60). - С. 251-253.

3. Пат. 89735 U. Україна, МПК A61K 36/40, A61K 3/10. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя кизилу / В.А. Рибак, Л.М. Малоштан, О.В. Криворучко, В.М. Ковальов. - № u201314662; Заявл. 16 грудня 2013; Опубл. 25.04.2014, Бюл. №6.-4 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з гіпоглікемічною дією, що включає технологічний етап екстрагування, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують листя стевії (Stevia rebaudiana), яку екстрагують гарячою водою очищеною (t - 80-90 °C) протягом доби з періодичним перемішуванням, причому сировину попередньо обробляють 96 % етанолом, одержану витяжку фільтрують та упарюють у вакуумному роторному випарнику до отримання сухого екстракту.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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