

Винахід належить до фармації і медицини, а саме стосується засобів, що містять біологічні активні речовини рослинного походження, зокрема - способу одержання лікарського засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з пагонів малини звичайної.

Відомий спосіб отримання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю з листя винограду сорту Дабуш [1], що включає екстракцію сировини 50 % спиртом етиловим, при співвідношенні сировина екстрагент 1:10 з подальшим упарюванням, фільтрацією, ресорбцією фенольних сполук з осаду водою, упарюванням і сушінням.

До недоліків відомого способу можна віднести однократну екстракцію, яка не дозволяє досягнути максимального витягання із сировини поліфенольних сполук.

Існує спосіб отримання комплексу біологічно активних речовин у формі сухого екстракту з противиразковою, протизапальною та мембраностабілізуючою дією з листя ліщини звичайної або грабу звичайного [2] шляхом триразовою екстракцією водою за температури 50-60 °C при співвідношенні сировини і екстрагенту (1:10)-(1:15) протягом 4-5 годин.

До недоліків відомого способу можна віднести тривалість процесу та недостатню антиоксидантну дію засобу.

Відомий спосіб отримання засобу [3], що має антиоксидантну дію, в якому подрібнене листя зеленого чаю, екстрагують двократно хлороформом, потім 60 % спиртом етиловим у співвідношенні сировина екстрагент 1:10-1:20, очищають і упарюють до співвідношення кількості екстракту і сировини 1:2.

Недоліком даного способу за прототипом можна вважати використання хлороформу, що ускладнює, здорожує процес отримання екстракту та використання рослинної сировини, яка не культивується в Україні.

Завданням винаходу є розробка способу одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з пагонів малини звичайної.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з пагонів малини звичайної, що включає двократну екстракцію рослинної сировини 60 % етанолом, у співвідношенні 1:20 протягом доби, очищення проводять відстоюванням та відокремленням надосадової рідини, яку піддають концентруванню у вакуум-випарному апараті за температури 50-60 °C до співвідношення кількості фільтрату і маси наважки рослинної сировини 1:2.

В одержаному екстракті з пагонів малини звичайної містяться фенольні сполуки: катехіни, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти; органічні кислоти, в тому числі амінокислоти; макро- та мікроелементи. Отриманий екстракт може бути використаний для отримання дієтичних добавок, лікарських препаратів з антиоксидантною і протизапальною активністю.

Експериментальним шляхом встановлено, що ефективним при проведенні екстракції заявленим способом є використання співвідношення сировини і екстрагенту як 1:20. При цьому, якщо співвідношення менше 1:20, не забезпечується достатня екстракція біологічно активних речовин (БАР), що призводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Навпаки, якщо співвідношення більше 1:20, це веде до ускладнення та подовження технологічного процесу та підвищення енерговитрат. Встановлене оптимальне співвідношення сировина:екстрагент як 1:20, при якому забезпечується максимальна екстракція БАР, час упарювання мінімальний та дозволяє отримувати екстракт на стандартному обладнанні без додаткового перезавантаження первинної сировини.

Винахід ілюструється прикладами

Приклад 1

100 г пагонів малини звичайної, подрібненого до розміру часток 2-3 мм, поміщали в колби, заливали 2 літрами 60 % спиртом етиловим і екстрагували протягом доби за кімнатної температури. Екстракцію повторювали двічі з новими порціями екстрагенту (2 л). Одержані витяжки об'єднували, відстоювали протягом доби, відфільтровували. Фільтрат упарювали за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата до співвідношення фільтрату і маси наважки рослинної сировини 1:2, тобто до об'єму 200 мл.

Приклад 2

Антиоксидантну активність екстракту з пагонів малини звичайної визначали з використанням потенціометричної методики, яка базується на різкій зміні потенціала платинового електрода, поміщеного в буферний розчин, що містить медіаторну систему $K_4[Fe(CN)_6]$ і $K_3[Fe(CN)_6]$ після додавання досліджуваного зразка у вимірювальну електрохімічну комірку і є результатом зміни співвідношення окисленої і відновленої форми компонентів медіаторної системи. Для порівняння результатів досліджували антиоксидантну активність "Аскорутин".

Антиоксидантну активність визначали наступним чином:

В електрохімічну комірку вносили 50,0 мл медіаторної системи, яка складалася з $K_4[Fe(CN)_6]$ і $K_3[Fe(CN)_6]$ з концентрацією 0,002/0,00002 М, відповідно; 1,0 мл досліджуваного лікарського засобу з пагонів малини звичайної додавали до електрохімічній комірки.

Антиоксиданту активність розраховували на підставі отриманої різниці потенціалів по формулам (1-2) і виражали в молях еквівалентів антиоксидантів на масу сухого залишку екстракту (ммоль-екв./м_{сух. зал.}). Отримані дані при n=3 в кожному досліді обробляли статистично.

$$AOA = \frac{C_{ox} - \alpha \times C_{red}}{1 + \alpha} \times K_{dil} \times 10^3 \times \frac{m_1}{m_2}, (1)$$

$$\alpha = (C_{ox}/C_{red}) \times 10^{(\Delta E - E_{ethanol})/2,3 \times R \times T}, (2)$$

де: C_{ox} - концентрація $K_3[Fe(CN)_6]$ в електрохімічній комірці, моль/л;

C_{red} - концентрація $K_4[Fe(CN)_6]$ в електрохімічній комірці, моль/л;

K_{dil} - коефіцієнт розведення;

$E_{ethanol}$ - 0,0546·С% - 0,0091;

С% - концентрація етанолу;

m_1 - маса сухого залишку екстракту;

m_2 - маса сухого залишку в 1 мл екстракту;

n - кількість електронів в електродній реакції (n=1);

F - постійна Фарадея (F=96485,333 Кл/моль);

R - універсальна газова стала (R=8,314 Дж/моль × К);

T - температура розчину, ° К.

Результати вивчення антиоксидантної активності засобу, одержаного за заявленим способом, наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Дослідження антиоксидантної активності засобу, одержаного за заявленим способом

Препарат	Антиоксидантна активність при n=3, ммоль-екв./м _{сух. ост.}
60 % спиртовий екстракт пагонів малини звичайної	119,13±2,38
Аскорутин	51,10±1,02

Приклад 3

Протизапальна активність 60 % спиртового екстракту пагонів малини звичайної була вивчена на 32 білих безпородних щурів-самців масою 180-220 г, на яких була створена модель гострого запалення, індукованого субплантарною ін'єкцією 0,1 мл 1 % карагану (Fluka, Швейцарія) у праву задню лапу щурів. Вимірювання набряку лапи у щурів проводили через 1, 2, 3, 8, 24 години з урахуванням того, що після введення максимальний набряк карагану спостерігається до третій години, потім набряк поступово зменшується протягом дня [4]. Для цього обсяг лап см³ вимірювали за допомогою цифрового плетизмометра Panlab (Іспанія) моделі LE 7500 версії V29/10/2014. Величина набряку в кожному у випадку визначалася різницею в обсязі між набряклими та здоровими лапами і виражалася %, показуючи, наскільки досліджуваний препарат пригнічує розвиток набряку порівняно з контролем, де величина набряку приймалася як 100 %. Антиексудативна активність 60 % спиртового екстракту пагонів малини звичайної та препарату порівняння розраховували за формулою:

$$A = \frac{(M_s - M_h) \times 100}{M_{sh} - M_{hc}}, (3)$$

де, A - антиексудативна активність, %; M_s - об'єм набряклої лапи в досліді; M_h - об'єм здорової лапи в досліді; M_{sh} - об'єм набряклої лапи в контролі; M_{hc} - об'єм здорової лапи в контролі.

Усіх тварин розділили на 4 груп. Перша група - контрольна патологія (тваринам, яким субплантарно вводили розчин карагану та внутрішньошлунково 0,5 мл/кг дистильованої води). Друга група - тварини, яким субплантарно вводили розчин карагану, а досліджуваний екстракт - внутрішньошлунково у 1 мл/кг. Тваринам 3 груп внутрішньошлунково вводили препарати порівняння на тлі введення карагану: диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг; 4 групу становили інтактні тварини, яким вводили 0,1 мл фізіологічного розчину субплантарно.

Результати вивчення протизапальної активності засобу, одержаного за заявленим способом, наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив досліджуваного екстракту на процес ексудації при запаленні карагінану у щурів
($M \pm m$, $n=8$, $p<0,05$)

Досліджуваний зразок	Доза	% пригнічення набряку порівнянно з контролем продовж часу				
		1 година	2 година	3 година	8 година	24 година
60 % спиртовий екстракт пагонів малини звичайної	25 мг/кг	43,1 $\pm$ 2,6	46,4 $\pm$ 7,2		24,2 $\pm$ 3,8	19,6 $\pm$ 7,2
Диклофенак натрію	8 мг/кг	32,4 $\pm$ 3,7	40,5 $\pm$ 5,1	54,6 $\pm$ 4,8	36,7 $\pm$ 5,9	24,7 $\pm$ 3,3

Результати досліджень у таблиці 1 свідчать про наявність антиоксидантної дії 60 % спиртового екстракту пагонів малини звичайної, що перевищує рівень дію препарату порівняння "Аскорутин" на 57 %.

Аналіз даних таблиці 2 показав, що 60 % спиртовий екстракт пагонів малини звичайної в дозі 1,0 мл/кг має протинабрякова дію протягом всього періоду експерименту. Особливо виражений антиексудативний ефект 60 % спиртового екстракту пагонів малини звичайної в дозі 1,0 мл/кг виявлявся протягом перших три години після введення карагінану. Так, при дозі 1,0 мл/кг - 49,8 %. Через 8 годин після введення карагінану 60 % спиртовий екстракт пагонів малини звичайної трохи слабше пригнічував розвиток набряку, ніж диклофенак натрію 36,7 %. Через 24 години антиексудативна активність 60 % спиртового екстракту пагонів малини звичайної склала 19,6 % (для дози 1,0 мл/кг) і 24,7 % для диклофенаку натрію. Згідно наведених результатів, 60 % спиртовий екстракт пагонів малини звичайної має характерну протизапальну активність.

Таким чином, заявлений спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з пагонів малини звичайної, який відзначається рядом переваг:

1) простота та можливість проведення на стандартному обладнанні у промислових умовах України;

2) використання як екстрагенту розчину 60 % етилового спирту, що робить спосіб доступним, екологічно безпечним, дешевим, таким що не вимагає роботи з отруйними та шкідливими для здоров'я людини речовинами;

3) наявність вираженої антиоксидантної активності екстракту з пагонів малини звичайної, одержаного за заявленим способом;

4) перспективність використання одержаного екстракту як лікарської субстанції для одержання різних лікарських форм.

Джерела інформації:

1. Спосіб одержання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю: пат. 59681 А Україна: А61К 36/87, А61К 127/00, С11В 1/10, А61Р 29/00, А61Р 39/06. № 2002119121; заявл. 15.11.2002; опубл. 15.09.2003, Бюл. № 9. 8 с.

2. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з антиоксидантною та протизапальною дією: пат. 86502 Україна: А61К 36/899, А61К 127/00, А61Р 7/10, А61Р 11/02, А61Р 17/08, А61Р 39/06. № а200708446; заявл. 23.07.2007; опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8. 8 с.

3. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною дією з листя зеленого чаю: пат. 150496 Україна: А61К 127/00, А61Р 39/06, А61К 36/82. № u202105657; заявл. 07.10.2021; опубл. 24.02.2022, Бюл. № 8. 3 с.

4. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. руководство: навч. посіб. / ред. О. В. Стефанов. Киев: Вид. дом "Авиц", 2001. 528 с.