



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **619**

(51) **МПК(2013) А 61 К 39/29**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

2

(21) 1300802

(22) 15.08.2013

(46) Бюл.96, 2014

(71) Азонов Дж.(ТJ); Холов А.К.(ТJ).

(72) Азонов Дж.(ТJ); Холов А.К.(ТJ);

Азонов И.Дж. (ТJ).

(73) Азонов Дж.(ТJ); Холов А.К.(ТJ).

(54) **ГЕПАТОЗАЩИТНЫЙ ПРЕПАРАТ.**

(56) А.Малеев и др. Розанол. Болгария, София.
1973, стр. 145

(57) Изобретение относится к области медицины, в частности к препаратам которые используются для лечения подострого и хронического гепатита.

Препарат состоит из смеси гвоздичного эфирного и растительного масел при следующем соотношении ингредиентов, масс. %:

гвоздичное эфирное масло - 5-25%.

растительное масло – остальное

Изобретение относится к области медицины, в частности к препаратам, которые используются для лечения подострого и хронического гепатита.

Прототипом является препарат «Розанол», со следующим процентным соотношением ингредиентов: розовое масло - 34,4 мг и растительное масло – остальное (А.Малеев и др. Розанол. Болгария, София. 1973, стр. 145).

Из-за недостаточности сырья трудно обеспечивать данным препаратом нужды медицины, что не позволяет быть общедоступным населению

Целью изобретения является разработка эффективного препарата на базе доступного сырья, которое позволило бы расширить арсенал и практически обеспечить нужды страны в гепато-защитных средствах.

Поставленная цель достигается тем, что в качестве активного начала берут эфирное гвоздичное масло в смеси с растительным при следующем соотношении ингредиентов, масс. %:

гвоздичное эфирное масло - 5-25%.

растительное масло - остальное.

Средство готовят следующим образом:

В гвоздичное масло добавляют рафинированное растительное масло, затем смесь при комнатной температуре перемешивают методом встряхивания в течении 20-30 мин до получения гомогенной смеси. Для изготовления предложенного гепатозащитного препарата (ГЗП) было использовано гвоздичное масло.

Характеристика компонентов

Данное гепатозащитное средство представляет собой подвижную жидкость с запахом эвгенола желтого цвета, легко растворимую в 95% спирте, которое должно храниться в плотно закрытой таре в сухом, прохладном и темном месте. Используемое гвоздичное масло должно соответствовать следующим показателям: плотность - 1,040-1,068; угол вращения от 0° до 13°; показатель преломления - 1,530-1,540. Кроме того 1 мл масла должен растворяться в 2-4 мл 70% спирта с образованием прозрачного раствора.

Количественное определение. Содержание количества компонентов гвоздичного масла определяют методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) на любом приборе отечественного производства или зарубежной фирмы. В качестве жидкой фазы используют 5% SE-30 (силиконовый эластомер), нанесенный на твердом носителе хроматоне N-AW-DMCS, длина колонки 3-4 м, диаметр 6 мм, температура колонки 130-150°C.

Содержание Эвгенола от 90 до 93 %

Ацетат эвгенола от 15 до 7,5 %

Растительное масло (оливковое, хлопковое, подсолнечное), используемое для изготовления средства должно быть рафинированным.

Как показали эксперименты наиболее оптимальным количеством гвоздичного масла, введенного в средство, является 5-25%. При таком количественном введении гвоздичного масла в смесь сохраняется фармакологическая активность препарата без побочных явлений на организм. При увеличении концентрации гвоздичного масла более 25% приводит к следующим побочным явлениям: жжению, гиперемии слизистых оболочек верхних отделов желудочно-кишечного тракта.

При снижении концентрации гвоздичного масла в смеси менее чем 5% фармакологическая активность настолько не велика, что нет смысла использовать такой препарат. Кроме того в нем повышается концентрация растительного масла, что в последствии приводит к диспепсическим явлениям.

Пример 1: препарат был испытан на белых крысах самцах весом 160-180 г с подострым токсическим поражением печени и был введен внутривенно.

Животные были распределены на следующие группы:

1. Интактные, которым ежедневно в течении 1 мес. внутрь вводилось подсолнечное масло из расчета 2 мл/кг массы.

2. Контрольные, крысы которым через день в течении месяца подкожно вводили CCl₄ в дозе 2 мл/кг массы.

3. Опытные животные с подострым токсическим гепатитом, ежедневно получавшие ГЗП в дозе 20 мл/кг массы.

Как видно из представленной таблицы № 1, процент выживаемости в контрольной серии в среднем составлял 66,6%. Из 12 опытных крыс, леченных с помощью ГЗП, выживало 10, что составляет 83,3%.

Антитоксическая функция печени у контрольных, леченных с помощью ГЗП оценивалась по продолжительности барбиталового сна у 32 животных с острым и 36 животных с подострым токсическим поражениями печени.

Как видно из представленной таблицы № 2 у животных с токсическим поражением печени продолжительность сна удлинялась в 2,5 раза, а у крыс с подострым токсическим гепатитом продолжительность барбиталового сна удлинялась в 2,4 раза, что свидетельствовало о тяжелом поражении гепатоцитов.

Под действием ГЗП продолжительность барбиталового сна уменьшалась почти в два раза. Под действием гепатозащитного свойства (статистически достоверно Р 0,001) улучшалась экскреторная функция печени в результате проведенного лечения ГЗП.

О гепатозащитном действии ГЗП судили по характеру его действия на обмен сиаловых кислот в ткани печени у леченных и контрольных животных.

Как видно из представленной таблицы № 3 месячное введение CCl_4 уменьшало концентрацию сиаловых кислот до $17,95 \pm 0,7$ нмоль/л на ткани печени против $46,0 \pm 2,43$ нмоль/л ткани печени у интактных животных.

У животных, леченных в течение 1 мес. с помощью ГЗП концентрация сиаловых кислот в среднем составляла $39,84 \pm 1,36$ против $17,9 \pm 0,7$ нмоль/л ткани печени у нелеченной серии (Р 0,001).

Как видно из таблицы № 4, месячная затравка животных CCl_4 способствовала повышению среднего веса печени и особенно коэффициента веса печени. В среднем коэффициент веса печени у нелеченных животных составлял $0,052 \pm 0,0001$ против $0,03 \pm 0,004$ у интактных крыс.

Коэффициент веса печени у крыс с подострым токсическим гепатитом, леченных в течение 1 месяца припомощи ГЗП в среднем был равен $0,033 \pm 0,0001\%$ (у интактных $0,03 \pm 0,0004$).

Результаты морфологического изучения биопсийного материала контрольных и опытных животных с токсическим поражением печени оказались следующими:

1. В срезах печени 6 нелеченных крыс с подострым токсическим гепатитом обнаружены тяжелый некроз гепатоцитов, крупнокапельная жировая дистрофия, резко выраженная гидрофобная дистрофия и геморрагии отек в портальном тракте. Полость печеночных синусоидов заполнена эритроцитами и лейкоцитами.

В биопсийном материале печени 8 животных, леченных с помощью ГЗП, наблюдалось отчетливое предупреждение некроза, жировой и гидропической дистрофии гепатоцитов и у 5 из 8 случаев только в отдельных полях зрения наблюдалось еще сохранившееся очень мелкое или средне-капельное ожирение гепатоцитов.

Во всех случаях прослеживалось отчетливое проявление, усиление процесса регенерации гепатоцитов. Это проявлялось в увеличении количества полиплоидных двух или многоядерных гепатоцитов.

У животных леченных ГЗП наблюдалось выраженное полнокровие сосудов портального тракта. Геморрагии отсутствовали. В полости синусоидов в отдельных случаях наблюдались единичные и мелкие капли жира.

У 6 из 8 животных с подострым токсическим гепатитом, леченных карсиллом, морфологическая картина биопсийного материала была сходной с результатами исследования животных леченных ГЗП.

Лишь в некоторых случаях наблюдалась крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов. В двух случаях из 8 наблюдались обширный некроз гепатоцитов, крупнозернистая дистрофия и

гидропическая дистрофия гепатоцитов. Гепатозащитное действие ГЗП на морфологическом уровне проявлялось активно.

Пример 2. С целью выяснения наличия противовоспалительного эффекта ГЗП, эффективность препарата выявлялась на модели формалинового отека лапок у белых крыс.

Эксперименты проводились на 26 белых крысах весом 140-160 г обоего пола. Животные были распределены на следующие группы:

1. Контрольные, которым в подопоневроз правой задней лапки с помощью иглы для внутрикожных инъекций вводился 0,1 мл 2,5 % раствора формалина.

2. Леченные животные, которым за час до инъекций формалина внутривенно 1 раз в сутки вводился ГЗП в дозе 20 мг/кг массы и так в течение 4 дней.

О противовоспалительном действии ГЗП судили по величине объема воспаленной лапки, который определялся плетизмометрическим методом (исходный объем принят за 100%, а также через 3, 6, 24, 48, 72, 109 часов (4 суток) после инъекций формалина и в процессе лечения препаратами.

Как видно из представленной таблицы № 5 подопоневрозное введение формалина вызывает резкое увеличение объема лапок через 3 часа на 51%, 6 часов – 68%, 24 часа – на 93%. Формалиновый отек стойко держался в течение 4 суток. У животных, леченных с помощью ГЗП на всех сроках исследования наблюдалось статистически достоверное (Р 0,05-0,001) уменьшение формалинового отека лапок.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии активного противовоспалительного эффекта у ГЗП, который достаточно активно проявляется при экссудативной (Р 0,005) и особенно при пролиферативной стадиях воспалительного процесса.

ГЗП является малотоксичным и не проявляет токсического действия на деятельность нервной, сердечнососудистой и дыхательной систем.

На основании изложенного и экспериментальных данных подтверждается активный гепатозащитный эффект ГЗП.

Преимущества предложенного препарата заключаются:

- в проявлении более активного печеночно-защитного эффекта;
- в более активном восстановлении антитоксической и экскреторной функции печени;
- в проявлении более активного процесса стимуляции регенерации в печени и уменьшении жировой, а также гидропической дистрофии гепатоцитов;
- в более активной нормализации нарушенного при остром токсическом гепатите обмена сиаловых кислот;
- в проявлении более активного противовоспалительного эффекта.

Формула изобретения

Гепатозащитный препарат, состоящий из смеси эфирного и растительного масел, **отличающийся тем, что** в качестве эфирного применяют

гвоздичное масло при следующем соотношении ингредиентов, масс. %:

гвоздичное эфирное масло - 5-25
растительное масло – остальное

Компьютерный набор: Фатхуллова М.С.

Заказ

Тираж

Подписное

Национальный патентно-информационный центр РТ
734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а.

ГЕПАТОЗАЩИТНЫЙ ПРЕПАРАТ

Таблица 1

**Выживаемость белых крыс с подострым токсическим гепатитом,
леченных в течение 1 месяца с помощью ГЗП**

№	Серия опытов и дозы в мг/кг массы (число крыс)	Число крыс серии	Из них выживало	
			Число	в %
1.	Интактные - подсолнечное масло 2 мл/л в течение 1 месяца	12	12	100
2.	CCl ₄ 2 мл/кг через день в течение 1 ме- сяца	10	6	66,6
3.	CCl ₄ 2 мл/кг через день в течение 1 ме- сяца+ГЗП 20 мг/кг ежедневно в течение 1 месяца	12	10	83,3

Примечание: ГЗП – гепатозащитный препарат

Таблица 2

**Влияние препарата на антитоксическую и экскреторную функции печени
при остром и подостром токсическом гепатите**

№	Серия опытов и дозы в мг/кг массы (число крыс)	Антитоксическая и экскреторная функции печени, через		
		Барбамилловый сон 50 мг/кг в мин.	10 мин.	30 мин. $\frac{M \pm m}{P < 0,001}$
1.	Интактные (8)	72,0±3,9	13,9±2,11	9,8±0,78
CCl ₄ 4 мл/кг 2 раза в течение 3 суток				
2.	CCl ₄ 4 мл/кг	$\frac{180,0 \pm 4,18}{0,001}$	$\frac{30,0 \pm 3,6}{0,001}$	$\frac{20,0 \pm 2,18}{0,001}$
3.	CCl ₄ 4 мл/кг+ГЗП 20 мг 3 раза в течение 3 суток (10)	$\frac{101,0 \pm 4,18}{0,04}$	$\frac{15,2 \pm 0,33}{0,001}$	$\frac{10,92 \pm 0,31}{0,001}$
CCl ₄ в течение 1 месяца				
5.	Интактные	70,0±4,7	12,7±0,75	9,1±0,39
6.	CCl ₄ 2 мл/кг (9)	$\frac{169,8 \pm 2,47}{0,001}$	$\frac{21,5 \pm 0,7}{0,001}$	$\frac{16,21 \pm 0,41}{0,001}$
7.	CCl ₄ 2 мл/кг через день+ГЗП 20 мг/кг ежедневно, 1 мес. (10)	$\frac{20,5 \pm 1,72}{0,05}$	$\frac{19,44 \pm 0,65}{0,001}$	$\frac{10,19 \pm 0,21}{0,01}$

Примечание: ГЗП – гепатозащитный препарат

Таблица 3

**Влияние ГЗП на обмен сиаловой кислоты в паренхиме печени
при подостром токсическом поражении печени CCl₄**

№	Серия опытов и дозы в мг/кг массы (число крыс)	Число крыс в серии	В нмоль/1 г ткани печени $\frac{M \pm m}{P}$
1.	Интактные - подсолнечное масло 2 мл/л в течение 1 месяца	8	$46,0 \pm 2,43$
2.	CCl ₄ 2 мл/кг через день в течение 1 месяца	7	$\frac{17,9 \pm 0,7}{0,001}$
3.	CCl ₄ 2 мл/кг через день в течение 1 месяца+ГЗП 20 мг/кг ежедневно, 1 месяц	8	$\frac{39,84 \pm 1,38}{0,001}$

Примечание: 1.ГЗП – гепатозащитный препарат

2. Значение P дано по сравнению с интактным, а для леченной серии по отношению к нелеченной серии (CCl₄)

Таблица 4

Средний вес и весовой коэффициент печени у белых крыс с подострым токсическим (CCl₄) гепатитом, леченных с помощью гепатозащитного препарата

№	Серия опытов и дозы в мг/кг массы (число крыс)	Показатели веса печени $\frac{M \pm m}{P}$	
		Средний вес печени в г	Коэффициент веса печени
1.	Интактные – подсолнечное масло 2 мл/кг ежедневно в течение 1 мес. (10)	$\frac{6,68 \pm 0,01}{100}$	$0,03 \pm 0,0004$
2.	CCl ₄ 2 мл/кг через день в течение 1 мес. (8)	$\frac{8,75 \pm 0,2}{0,05}$	$\frac{0,052 \pm 0,0001}{0,001^{xx}}$
3.	CCl ₄ 2 мл/кг через день в течение 1 мес. + ГЗП 20 мг/кг ежедневно, 1 мес. (9)	$\frac{7,0 \pm 0,02}{120\%^x}$	$\frac{0,033 \pm 0,0001}{0,001}$

Примечание: x – в % по отношению к интактным;

xx – значение P для контрольной серии дано по отношению к интактным, а для леченной серии – по отношению к нелеченым (CCl₄)

ГЗП – гепатозащитный препарат

Таблица 5

Противовоспалительное действие препарата на модели формалинового отека у белых крыс

№	Серия опытов и дозы в мг/кг массы (число крыс)	Прирост объема воспаленной лапки от исходного объема через $\frac{M \pm m}{P <}$						
		Исходный объем (принятый за 100%)	3 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток	4 суток
1.	Контроль-формалин 2,5% 0,1 мг подапоневроз (8)	$0,87 \pm 0,02$ 100	$1,327 \pm 0,01$ 0,001 151	$1,47 \pm 0,03$ 0,001 168	$1,68 \pm 0,03$ 0,001 193	$1,82 \pm 0,01$ 0,001 209	$1,8 \pm 0,03$ 0,001 206	$1,67 \pm 0,01$ 0,001 191
2.	ГЗП 20 мг/кг+формалин 2,5% 0,1 подапоневроз (10)	$1,11 \pm 0,03$ 100	$1,28 \pm 0,03$ 0,05 115	$1,36 \pm 0,033$ 0,05 122	$1,56 \pm 0,32$ 0,001 140	$1,64 \pm 0,02$ 0,001 147	$1,58 \pm 0,02$ 0,001 144	$1,25 \pm 0,03$ 0,001 112

Примечание: 1. ГЗП – гепатопротективный препарат

2. Значение P для контрольной серии даны по сравнению с исходными данными, а для леченой серии по сравнению с соответствующим сроком контрольной серии