

Винахід відноситься до фармації та медицини, а саме до лікарських засобів рослинного походження та способів одержання біологічно активних субстанцій - ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної з протимікробною та репаративною активністю, та лікарського засобу на його основі, який може бути використаний для ефективного лікування септичних та асептичних ран в дерматології та хірургії.

Відомий спосіб отримання ліпофільного екстракту з природної сировини - обніжжя бджолиного (патент України №25670 кл. А61К35/64 1998р.), оснований на екстракції подрібненої сировини зрідженим газом дихлордиформметаном при тиску 4,5-5,5кгс/см², що перевищує атмосферний, при співвідношенні сировина - екстрагент 1:5-1:6 з наступним видаленням екстрагенту.

До недоліків зазначеного способу можна віднести високу вартість та складність технологічного процесу, а також необхідність використання спеціального обладнання для проведення екстракції при високому тиску.

Найближчий до заявленого за технологічними прийомами є спосіб отримання поліфенолів з гепатопротекторною, жовчогінною, антиоксидантною та аналептичною діями (патент РФ №2018315 кл. А61К35/78 1994р.) шляхом екстракції трави астрагала бунговського при співвідношенні сировина - екстрагент 1:4-5 80% етанолом в реакторі з підігрівом до 60-70°C, упарювання екстракту, видалення баластних речовин хлороформом, та вичерпної екстракції цільового продукту порціями етилацетату, підсушування етилацетатних витягів над безводним сульфатом натрію, упарювання, і висадження сухим хлороформом з наступним висушуванням.

Проте цей спосіб не передбачує отримання як цільового продукту ліпофільного екстракту, а лише видалення хлороформом ліпофільних баластних речовин при одержанні комплексу поліфенолів.

Задачею винаходу є створення способу одержання ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної, в якому шляхом запропонованої сукупності технологічних прийомів та параметрів досягається максимальне виділення ліпофільного екстракту, що має виражену протимікробну та репаративну дію.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної шляхом екстракції подрібненої надземної частини грінделії розчепіреної у фазі середини квітіння розчином етанолу, упарювання у вакуумі та обробки хлороформним розчинником додатково передбачено, що вичерпну екстракцію проводять 50% етанолом при співвідношенні сировина - екстрагент 1:9-1:11 з наступним упарюванням, обробкою хлороформним розчинником та сушінням.

Вибір у якості екстрагенту 50% етанолу було здійснено експериментальним шляхом.

Дані експерименту наведені в таблиці 1

Таблиця 1

Кількісний вихід екстрактивних речовин

Екстрагент	вода	30% етанол	50% етанол	70% етанол	96% етанол
Кількісний вихід екстрактивних речовин, %	24,61	28,34	31,43	26,84	18,43

Аналіз даних свідчить, що максимально ефективна екстракція досягається при використанні в якості екстрагенту 50% етанолу.

Експериментально встановлене співвідношення сировина - екстрагент 1:9-1:11 забезпечує вичерпну екстракцію ліпофільних речовин з грінделії розчепіреної.

Вибір хлороформу у якості хлороформного розчинника обумовлений його здатністю максимально екстрагувати ліпофільні сполуки грінделії розчепіреної.

Експериментально був здійснений вибір сировини в залежності від фази вегетації грінделії розчепіреної. Найбільша кількість ліпофільних сполук накопичується в фазі бутонізації та особливо у фазі квітіння грінделії розчепіреної.

Дані кількісного виходу ліпофільного комплексу наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Кількісний вихід комплексів біологічно активних речовин в залежності від фази вегетації грінделії розчепіреної

Фаза вегетації	Середина бутонізації	Середина квітіння
Кількісний вихід ліпофільного екстракту, %	6,98	12,95
Кількісний вихід поліфенолів, %	11,46	14,46

З таблиці видно, що фаза середини квітіння грінделії розчепіреної є самою оптимальною для отримання ліпофільного екстракту.

Для упарювання екстракту є оптимальним інтервал температур 85-90°C, який обумовлений концентрацією етанолу в екстрагенті. При зменшенні температури збільшується час упарювання, тобто негативного впливу підвищеної температури на біологічно активні речовини екстракту. Збільшення температури може призвести до руйнування термолабільних речовин.

Спосіб здійснюється таким чином, що повітряно-суху надземну частину грінделії розчепіреної вичерпно екстрагують 50% етанолом в співвідношенні сировина - екстрагент 1:9-1:11. Отриманий екстракт упарюють до

водного залишку у вакуумі при температурі 85-90°C, який обробляють 6-8 разів порціями хлорорганічного розчинника для виділення ліпофільного екстракту. Екстракт упарюють до видалення хлорорганічного розчинника. Вихід ліпофільного екстракту складає 11-13% в перерахунок на суху сировину. Водний залишок може бути використаний для одержання суми біологічно активних поліфенольних сполук шляхом упарювання та сушіння з виходом 14-15%.

Винахід ілюструється прикладом.

Приклад 1.

1,7кг подрібненої повітряно-сухої надземної частини грінделії розчепіреної, зібраної в фазі середини квітіння, вичерпно екстрагували 50% етанолом в співвідношенні сировина-екстрагент 1:10. Отриманий екстракт (25,74л) упарювали до водного залишку (1,5л) у вакуумі при температурі 85-90°C, який обробляли 7 разів порціями хлороформу 3 рази по 500мл, потім по 200мл для виділення ліпофільного екстракту. Отримані 2л хлороформного екстракту упарювали до видалення хлороформу. Вихід ліпофільного комплексу склав 12,95%. Вихід додаткового продукту - суми поліфенольних сполук склав 14,68%.

Відомо, що сучасна фармацевтична промисловість не забезпечує потреб хірургів в асортименті лікарських засобів для місцевого лікування ран (Логачев В.К. Стратегия применения мягких лекарственных форм для местного лечения гнойных ран // Вісник фармації.-2002.-2(30).-С.50-51), тому дуже актуальною є проблема створення нового ефективного лікарського засобу на основі нової субстанції - ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної з протимікробною та репаративною активністю, який може бути використано для ефективного лікування септичних та асептичних ран в дерматології та хірургії.

Відома протизапальна та ранозагоювальна мазь "Вундехіл" (Патент України №26600 кл. А61К9/06,35/78, 1999р.), яка містить наступні компоненти: ланолін безводний, нутряний жир, бджолиний віск, карофілен, водно-спиртові витяжки кореневищ лапчатки прямостоячої, софори японської, трави деревію, спиртову витяжку прополісу та олію.

До недоліків відомого засобу можна віднести багатоконпонентність складу, що веде до технологічних складностей виготовлення багатоконпонентної мазі, при цьому важко передбачити взаємний вплив компонентів, до того ж можливі алергічні реакції на продукти бджільництва.

Найближчою до заявленого засобу за фармакологічною дією та вмістом ліпофільного екстракту природного походження є мазь "Ліповіт" (патент України №25669 кл. А61К35/64,9/06 1998р.), яка містить (мас. %)

ліпофільний екстракт обніжжя

бджолиного	2,9-3,1
масло вазелінове	9,8-10,2
емульгатор №1	8,8-9,2
поліетиленоксид	400 9,8-10,2
бутилоксіанізол	0,145-0,155
бронітрол	0,095-0,105
спирт етиловий ректифікат	4,9-5,1
вода очищена	до 100,0

та виявляє репаративну активність.

До недоліків відомого засобу можна віднести вірогідну алергічність продуктів бджільництва, що входять до складу цієї мазі та складність технології одержання багатоконпонентної мазі, що потребує спеціального обладнання та спеціальних технологічних прийомів.

Задачею винаходу є створення нового ефективного лікарського засобу на основі ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної та фармацевтично прийнятних речовин, який має виражену протимікробну та репаративну дію, практично не має побічних дій та протипоказань і може бути використаний при лікуванні септичних та асептичних ран в дерматології та хірургії.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у лікарському засобі на основі ліпофільного екстракту природного походження та фармацевтично прийнятних речовин, передбачено використання ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної, як основного діючого компонента при співвідношенні компонентів (мас. %):

Ліпофільний екстракт грінделії

розчепіреної	0,5-3,5
Фармацевтично прийнятні речовини	решта

Фармакологічна активність заявленого лікарського засобу визначається ліпофільним екстрактом грінделії розчепіреної як активного діючого компонента.

Також вперше запропоновано лікарський засіб у формі мазі на основі ліпофільного екстракту природного походження та поліетиленоксиду 400 в якості компоненту основи, який відрізняється від прототипу тим, що містить ліпофільний екстракт грінделії розчепіреної і додатково - поліетиленоксид 1500 при співвідношенні компонентів (мас. %):

Ліпофільний екстракт грінделії

розчепіреної	0,5-3,5
Поліетиленоксид 400	54,7-82,0
Поліетиленоксид 1500	решта

Експериментальне визначена сукупність ПЕО 400 і ПЕО 1500, яка потенціює дію лікарського засобу, підвищуючи біодоступність його активного діючого компонента, внаслідок того, що ПЕО виявляють осмотичні властивості і відіграють у даному засобі роль носія біологічно активних речовин. Саме підібране співвідношення ПЕО 400 та ПЕО 1500 забезпечує відмінні технологічні параметри мазі та потенціювання біологічної активності ліпофільного екстракту.

Збільшення концентрації ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної вище заявленої не призводить до збільшення фармакологічної дії, а навпроти призводить до її зменшення а також погіршує фармацевтичні та споживчі властивості мазі. Нераціонально також зменшення кількості ліпофільного екстракту нижче заявленої, тому що це призводить до зменшення фармакологічної дії.

Заявлений лікарський засіб на основі нового вперше одержаного ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної невідомий з інформаційних джерел.

Винахід здійснюється таким чином. Заявлений засіб одержують шляхом додавання до ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної фармацевтично прийнятних речовин, зокрема розплавленої суміші поліетиленоксиду 400 та поліетиленоксиду 1500 при додержанні загальних технологічних вимог.

Винахід ілюструється прикладами:

Приклад 1.

Виявлення протимікробної активності проводили використовуючи метод дифузії в агар та набір еталонних штамів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28853, *Candida albicans* ATCC 885-653.

Дані експерименту наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Результати визначення протимікробної активності ліпофільного екстракту по відношенню до контролю

Штами мікроорганізмів	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Діаметр зон затримки росту, мм	19/12	15/14	30/0	15/14	13/12

Встановлена виражена протимікробна активність ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної по відношенню до *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*, діаметр зон затримки росту *Staphylococcus aureus* - 19 мм, *Bacillus subtilis* - 30 мм. Протимікробна активність до мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans* перевищує фонову.

Приклад 2.

Вивчення репаративної активності мазей з ліпофільним екстрактом грінделії розчепіреної проводили на білих нелінійних щурах масою 150-230 г, вирощених в умовах віварію згідно санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні та стандартизованих за фізіологічними та біохімічними показниками. Як препарат порівняння використовували мазь "Вундехіл", яка має виражену репаративну активність.

Ранозагоювальну активність досліджували по відношенню до контрольної групи тварин, які не отримували лікування, на моделі трафаретних ран. Перевагою цього методу є створення стандартних умов формування ран. Під час моделювання ран тварини всіх груп були неспокійні та агресивні. З другого дня експерименту починали лікування ран та продовжували до повного рубцювання. Досліджувані мазі наносили на поверхні ран кожен день. Швидкість загоювання ран та стан ран оцінювали кожну добу. Отримані результати статистично обробляли.

Дані експерименту наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Результати визначення репаративної активності

Лікувальний засіб	Швидкість загоювання ран, дні к контролю	Репаративна активність, %
Контроль	25±2,8	-
1% мазь грінделії	16±2,3 ^x	36
3% мазь грінделії	17±2,4 ^x	32
Мазь "Вундехіл"	18±2,6 ^x	28

Примітка: ^x - достовірність відмінності по відношенню до даних контрольної групи (p<0,05).

В контрольній групі і дослідних групах загибелі тварин не було.

Спостереження за тваринами контрольної групи показали зниження маси тіла щурів у гострій фазі патології на третю добу на 10% від початкової. У щурів, яких лікували мазями з ліпофільним екстрактом грінделії розчепіреної та маззю "Вундехіл" статистично вірогідних відхилень маси тіла не спостерігалось.

Було встановлено, що в контрольній серії тварин розмір ран залишався початковим ще на десяту добу. Рани були покриті струпом, під яким був гнійний вміст. На 10 добу експерименту рани лише трохи зменшилися у розмірі, їх середня площа була 1,3см², було сіро-гнійне відокремлення. На 20 добу рани були у половини тварин. Повна епітелізація наступала в середньому на 25 добу. В останні дні спостереження щури контрольної групи були малорухливі, в'ялі, неохоче їли корм.

Щури, яких лікували мазями з ліпофільним екстрактом грінделії розчепіреної вище названі симптоми спостерігались лише в перші 2 дні лікування та були менше виражені, а потім зовсім зникли. Відмічалось помітне зменшення ознак запалення, спостерігалась крайова епітелізація, а при знятті струпу спостерігалась тьмяна рожева поверхня. Повна епітелізація під впливом мазі з 1% ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної спостерігалась на 16 день, а під впливом мазі з 3 % ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної - на 17 день, репаративна активність склала 36% та 32% відповідно, що значно перевищує таку у мазі "Вундехіл" (28%).

Приклад 3.

У ході експериментів були дослідженні різні варіанти кількісних складів заявленого лікарського засобу, які

наведені в таблиці 5

Таблиця 5

Варіанти заявленого засобу

Компоненти, мас. %	Варіанти		
	Варіант 1	Варіант 2	Варіант 3
Ліпофільний екстракт грінделії розчепіреної	1	3,5	5
Поліетиленоксид 400	69,3	82,0	57,0
Поліетиленоксид 1500	29,7	14,5	38,0

Склад лікарського засобу за варіантом 1 є оптимальним, відповідає всім фармацевтичним, та технологічним вимогам та має виражену протимікробну та репаративну активності.

Фармацевтичні та технологічні властивості засобу за варіантом 2 знаходяться у межах вимог до якісного лікарського засобу.

Варіант 3 не відповідає фармацевтичним параметрам, споживчим властивостям та крім того знижуються фармакологічна активність внаслідок введення до складу засобу компонентів, які не відповідають заявленим інтервалам кількісних значень.

Таким чином, заявлені спосіб одержання ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної з протимікробною та репаративною активністю і лікарський засіб, що містить даний ліпофільний екстракт мають такі переваги перед існуючими: Спосіб простий, економічний, на основі вітчизняної сировини, з високим виходом, обумовлює високу фармакологічну активність цільового продукту; лікарській засіб поповнює недостатній арсенал вітчизняних препаратів з репаративною та протимікробними діями для лікування септичних та асептичних ран і може бути використаний в дерматології та хірургії, є ефективним, нетоксичним, не має протипоказань, стабільний, не розшаровується при зберіганні, простий у виробництві, економічний та передбачує стандартне обладнання для виробництва