



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114992** (13) **C2**

(51) МПК (2017.01)

A61K 36/8967 (2006.01)

A61K 133/00 (2006.01)

A61P 31/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2016 07051**

(22) Дата подання заявки: **29.06.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: **28.08.2017**

(41) Публікація відомостей
про заявку: **10.03.2017, Бюл.№ 5**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **28.08.2017, Бюл.№ 16**

(72) Винахідник(и):
**Лелека Марія Василівна (UA),
Заліська Ольга Миколаївна (UA),
Папарига Вікторія Львівна (UA)**

(73) Власник(и):
**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА
ГАЛИЦЬКОГО,
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010 (UA)**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
EP 2465518 A1, 20.06.2012
US 8481093 B2, 09.07.2013
Лікарські рослини: енциклопедичний довідник / Відповідальний редактор А. М. Гродзінський. — К.: Видавництво «Українська енциклопедія» імені М. П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп». - 1992. - С. 635
Белая лилия- 10 полезных свойств. Белая лилия в народной медицине. [Інтернет публікація], URL: <https://web.archive.org/web/20130425171300/http://zhitiemoe.com/novosti/belaya-liliya-krasivyy-doktor> (збережено WayBack Machine 25.01.2013, знайдено 28.04.2017)
Календулы настойка. Справочник лекарств. Likar.info. Портал о здоровье. [Інтернет публікація], URL: <https://web-beta.archive.org/web/20120122224135/http://www.likar.info/lekarstva/Kalenduly-nastojka> (збережено WayBack Machine 22.01.2012, знайдено 28.04.2017)
Kopaskova M. et al. Extract of Lillium candidum L. can modulate the genotoxicity of the antibiotic zeocin / M. Kopaskova, L. Hadjo, B. Yankulova, G. Jovtchev, E. Galova, A. Sevcovicova, P. Mucaji. E. Miadokova, P. Bryant, S. Chankova // Molecules. - 2012. - Vol. 17. - P. 80 - 97
Лелека М.В. Визначення суми флавоноїдів у настоянках квітів лілії білої / М.В. Лелека, Л.В. Вронська, О.М. Заліська // Фармацевтичний часопис. - 2011. - № 1. - С. 15-18

(54) МЕДИКАМЕНТОЗНИЙ ЗАСІБ НА ОСНОВІ КВІТІВ ЛІЛІЇ БІЛОЇ

(57) Реферат:

Винахід стосується медикаментозного засобу на основі лілії білої та спирту етилового, що проявляє протимікробну, протигрибкову та протизапальну дії.

UA 114992 C2

Винахід стосується медицини, зокрема, фармації, і може бути використаний у фармацевтичній промисловості при виготовленні медикаментозних засобів протимікробної, протигрибкової та протизапальної дії на основі лілії білої.

Відомий медикаментозний засіб протимікробної дії рослинного походження - настойка календули, яка містить каротиноїди, вуглеводи парафінового ряду, смоли, сапоніни, тритерпенові глікозиди, органічні кислоти та дубильні речовини. В якості екстрагента використовують спирт етиловий 70 %. Препарати настойки календули при зовнішньому використанні мають протизапальну та бактерицидну дію, застосовуються місцево як антисептичний засіб при інфікованих ранах, порізах, опіках шкіри та при запаленні слизових оболонок порожнини рота, ясен, глотки, мигдаликів [<http://www.liku.in.ua/dovidnyk-likiv/item/11074>].

Недоліком відомого засобу є недостатня лікувальна ефективність, що зумовлена складом біологічно активних речовин та проявляється відсутністю впливу на грибки. Вказаний засіб не проявляє протигрибкової дії.

В основу винаходу поставлено задачу розробити новий медикаментозний засіб на основі квітів лілії білої, який проявляє широкий спектр антимікробної активності, протигрибкову та протизапальну дію.

Поставлена задача вирішується тим, що у медикаментозному засобі, що містить лікарську рослину сировину та спирт етиловий 70 %, згідно з винаходом, використовують квіти лілії білої та спирт етиловий 70 % і готують спиртову настойку у такому співвідношенні інгредієнтів, мас. %:

квіти лілії білої	10,0
спирт етиловий 70 %	90,0.

Одержаний продукт - спиртовий розчин для зовнішнього вживання жовтуватого кольору, характерного запаху, який проявляє широкий спектр антимікробної активності, протигрибкову та протизапальну дію.

Пропонований винахід пояснюється ілюстрацією, на якій продемонстровано вивчення антимікробної активності настойки лілії білої на 70 % спирті етиловому методом "колодязів", де 1 - настойка пелюсток лілії білої на 70 % спирті етиловому, 2 (К) - контроль - 70 % спирт етиловий, 3 - настойка квітів лілії білої на 70 % спирті етиловому.

Вміст суми флавоноїдів визначали у настойках квітів лілії білої, приготованих з використанням спирту етилового різних концентрацій - 40 %, 70 % та 96 % в перерахунку на лютеолін-7-глікозид. Нами встановлено, що вміст флавоноїдів становить не менше 0,03 % [Лелека М.В. Визначення суми флавоноїдів у настойках квітів лілії білої / М.В. Лелека, Л.В. Вронська, О.М. Заліська // Фармацевтичний часопис. - 2011. - № 1. - С. 15-18].

У процесі отримання екстрактів проводився відбір проб через 2 доби, через 4 доби і настоювання протягом 7 діб. Для деталізованого вивчення вмісту суми флавоноїдів у настойках квітів лілії білої отримували спиртові вилучення окремо з пелюсток та тичинок.

Вміст суми флавоноїдів у спиртових витяжках квітів лілії білої, приготованих з використанням спирту етилового 70 %, є найвищим, у порівнянні з 40 % та 96 %, і становить 0,03 %. Вивчення флавоноїдів окремо у пелюстках та тичинках підтверджує доцільність використання квітів, а не їх окремих компонентів. Вивчення динаміки екстрагування показало, що максимальна кількість флавоноїдів переходить у витяжку протягом перших двох діб.

Завдяки вмісту флавоноїдів проявляється протизапальна дія медикаментозного засобу на основі квітів лілії білої.

Вивчення біологічно активних речовин квітів лілії білої включало дослідження ефірних олій. Ефірні олії із досліджуваної сировини виділяли методом перегонки з водяною парою із використанням віали "Agilent".

Індекси одержання компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів ефірної олії із додаванням суміші нормальних алканів (C₁₀-C₁₈). Результати показали найбільший вміст наступних компонентів: бензилсаліцилату (16,21 %), гептакозану (13,84 %), пентакозану (10,37) та трикозану (9,75 %). Завдяки бензилсаліцилату настойка квітів лілії білої проявляє активність проти грибкових та бактеріальних інфекцій.

Антимікробну активність настоек квітів лілії білої вивчали методом розведень та методом дифузії в агар [Лелека М.В. Визначення суми флавоноїдів у настойках квіток лілії білої / М.В. Лелека, Л.В. Вронська, О.М. Заліська // Фармацевтичний часопис. - 2011. - №1.- С. 15-18].

Для реалізації методу серійних розведень у пробірки наливали по 2 мл екстрактів, розведених у співвідношеннях 1:2, 1:4, та 1:8 у м'ясо-пептонному бульйоні. Потім у кожную пробірку вносили по 0,2 мл стандартизованої тест-культури (10⁵ мікробних тіл/мл). Як тест-культури використовували музейні штами мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538),

Streptococcus pyogenes (бетагемолітичний ATCC), Candida albicans (ATCC 885-653), Escherichia coli (ATCC 25922). Для визначення чутливості Streptococcus pyogenes і Candida albicans використовували цукровий м'ясо-пептонний бульйон. Після культивування у термостаті при температурі 37° С протягом 24-48 годин (залежно від біологічних властивостей тест-культур) оцінювали бактеріостатичну, а після висівання вмісту пробірки, де не було ознак росту, - бактерицидну дію екстрактів (наявність бактерицидних властивостей - «++», наявність бактеріостатичних властивостей - «+», відсутність бактерицидних та бактеріостатичних властивостей - «-»). Для одержання об'єктивних результатів досліджень зразки екстрактів висівали на м'ясо-пептонний агар і культивували в термостаті протягом доби при температурі 37° С. Визначення антимікробної активності за даною методикою проводили тричі. Визначали чутливість музейних штамів мікроорганізмів до досліджуваних екстрактів за методом дифузії в агар-методом "колодязів". Посіви інкубували при 37° С протягом 24-48 годин. Діаметр зони затримки росту тест-культур вимірювали у міліметрах, включаючи діаметр "колодязя". Оцінку антимікробної активності проводили за наступними критеріями: при наявності зони затримки росту до 10 мм штам вважали нечутливим до досліджуваного зразка, при діаметрі зони затримки росту 11-20 мм штам розцінювали як чутливий, а при зоні затримки росту понад 20 мм - як високочутливий. Експерименти повторювали тричі, визначаючи медіану цифрового значення діаметра зони затримки росту.

Результати вивчення антимікробної активності настоек квітів лілії білої наведено у Таблиці.

Таблиця

Антимікробна активність настоек квітів лілії білої

Музейний штам	Метод серійних розведень Розведення екстракту			Метод "колодязів" Діаметр затримки росту, мм (Ме)
	1:2	1:4	1:8	
Настойка лілії білої (пелюстки), 70 % спирт етиловий/контрольний дослід (70 % спирт етиловий)				
S. aureus	++	+	+	19/18
S. pyogenes	+	+	+	12/10
C. albicans	+	+	+	13/11
E. coli	+	+	+	15/13
Контрольний дослід (70 % спирт етиловий)				
S. aureus				18
S. pyogenes				10
C. albicans				11
E. coli				13
Настойка лілії білої (пелюстки), 40 % спирт етиловий/контрольний дослід (40 % спирт етиловий)				
S. aureus	++	+	-	19/11
S. pyogenes	++	+	-	14/13
C. albicans	+	+	-	15/10
E. coli	+	+	-	16/10
Контрольний дослід (40 % спирт етиловий)				
S. aureus				11
S. pyogenes				13
C. albicans				10
E. coli				10
Настойка лілії білої (пелюстки), 70 % спирт етиловий/контрольний дослід (70 % спирт етиловий)				
S. aureus	++	++	+	21/18
S. pyogenes	+	+	-	13/10
C. albicans	++	+	+	15/11
E. coli	+	-	-	14/13

Примітки: «++» - наявність бактерицидних властивостей, «+» - наявність бактеріостатичних властивостей, «-» - відсутність бактерицидних та бактеріостатичних властивостей.

Результати проведених випробувань за методом розведень показали, що настойка пелюсток лілії білої на 70 % спирті етиловому, розведена у співвідношенні 1:2, проявляє антимікробну активність відносно музейних штамів мікроорганізмів Staphylococcus aureus.

Стосовно *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* та *Escherichia coli* настойка проявляє виражені бактеріостатичні властивості, а у розведеннях 1:4 та 1:8 - проявляє бактеріостатичні властивості відносно усіх досліджуваних штамів мікроорганізмів.

5 Настойка пелюсток лілії білої на 40 % спирті етиловому, розведена у співвідношенні 1:2, проявляє антимікробну активність відносно музейних штамів *Staphylococcus aureus* та *Streptococcus pyogenes*. Стосовно *Candida albicans* та *Escherichia coli* настойка проявляє виражені бактеріостатичні властивості, а у розведеннях 1:4 - проявляє бактеріостатичні властивості відносно усіх досліджуваних штамів мікроорганізмів.

10 Настойка квітів лілії білої на 70 % спирті етиловому, розведена у співвідношенні 1:2, проявляє антимікробні та протигрибкові властивості відносно музейних штамів *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*. Стосовно *Streptococcus pyogenes* та *Escherichia coli* настойка проявляє виражені бактеріостатичні властивості, у розведеннях 1:4 настойка проявляє бактерицидні властивості стосовно *Staphylococcus aureus* та бактеріостатичні властивості стосовно *Streptococcus pyogenes* та *Candida albicans*, а у розведенні 1:8 - проявляє тільки

15 бактеріостатичні властивості стосовно *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*.
Результати, отримані методом дифузії в агар, дозволяють характеризувати антимікробну активність досліджуваних екстрактів, тому що зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії біологічно активних речовин у щільне живильне середовище.

20 Дослідження антимікробної активності настоек квітів лілії білої, виконані за допомогою цієї методики, підтвердили, що музейні штами *Staphylococcus aureus* мають високу чутливість до настоек квітів лілії білої, як видно на ілюстрації, де 1 - настойка пелюсток лілії білої на 70 % спирті етиловому, 2 (К) - контроль - 70 % спирт етиловий, 3 - настойка квітів лілії білої на 70 % спирті етиловому.

25 Дещо меншу чутливість мають музейні штами *Candida albicans* та *Streptococcus pyogenes*. Для підтвердження антимікробної активності настоек квітів лілії білої, зумовленої вмістом біологічно активних речовин, нами було проведено серії контрольних дослідів з використанням спирту етилового відповідної концентрації.

30 Результати проведених досліджень підтвердили, що настойки квітів лілії білої мають антимікробний та протигрибковий ефекти. Найбільшу активність проявляє настойка квітів лілії білої на 70 % спирті етиловому щодо музейних штамів *Staphylococcus aureus*. За методом "колодязів" показано, що настойка проявляє протигрибкову активність по відношенню до *Candida albicans*.

35 Отже, запропонований медикаментозний засіб на основі лілії білої характеризується показниками, що повністю відповідають вимогам фармакопеї [Державна Фармакопея України / ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид. - Доповнення 2. - Харків: ДП "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. - 620 с], а також підвищенням фармакологічної активності та лікувальної ефективності отриманої настойки, порівняно із засобом-прототипом, і може бути використаний у промисловому виробництві настойки лілії білої.

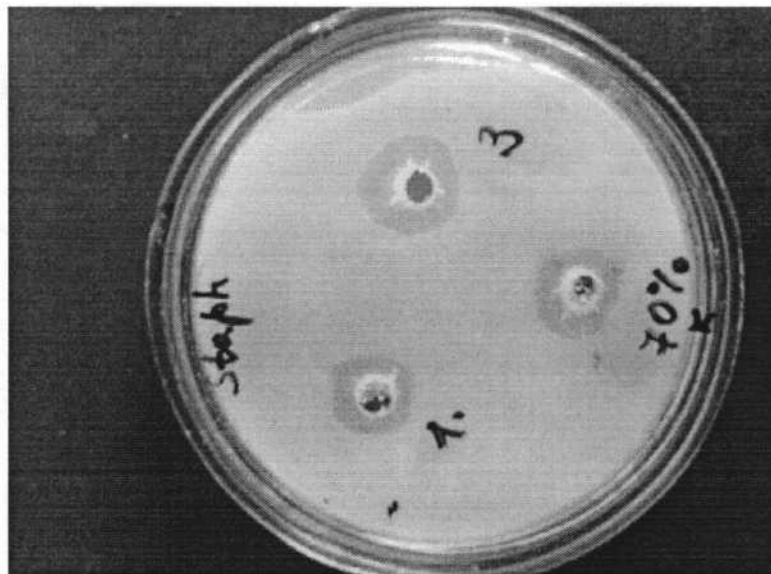
40

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Медикаментозний засіб, що містить лікарську рослинну сировину та спирт етиловий 70 %, який **відрізняється** тим, що використовують квіти лілії білої та спирт етиловий 70 % і готують

45 спиртову настойку, у такому співвідношенні інгредієнтів, мас. %:

квіти лілії білої	10,0
спирт етиловий 70 %	90,0.



Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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