

Винахід відноситься до фармацевтичної галузі медицини і може бути використаний на основі біологічно активних речовин, виділених із бруньок берези (*Betula pendula*), для створення нового протиінфекційного лікарського засобу з інтерфероніндукуючою дією.

У медичній практиці застосовують настої, відвари та настоянки бруньок берези як жовчогінні, сечогінні та протигрибкові засоби [1, 2]. Відомі способи одержання таких засобів, основні умови виконання яких включають настоювання 10г сировини впродовж 30хв. у 200мл окропу або на 90% етиловому спирту у співвідношенні 1:5, не дозволяють максимально екстрагувати головні діючі речовини з рослинної сировини, а самі фітопрепарати мають короткий термін зберігання.

Недоліком вказаних способів є також те, що вони не дають можливість одержати фармацевтичний препарат у вигляді стійкої субстанції, придатної до застосування в технології ліків, і який не володіє інтерфероніндукуючими властивостями, через що має досить обмежений спектр дії на патогенні мікроорганізми.

В основу винаходу поставлено завдання удосконалення способу отримання фітоекстракту з інтерфероніндукуючою дією, в якому шляхом проведення кількарázового екстрагування до максимального виснаження рослинної сировини необхідно забезпечити повноту екстракції та високий вихід готового ліофілізованого продукту в кількості 12-17% від вихідної сировини, за рахунок чого він набуває стабільності на протязі 2-3 років і проявляє здатність стимулювати в макроорганізмі утворення інтерферону.

Дане завдання вирішується тим, що спосіб отримання фітоекстракту з інтерфероніндукуючою дією, яке включає використання рослинної сировини з її подрібненням та екстракцією, згідно винаходу в якості сировини використовують висушені бруньки берези, яку 3-4 рази екстрагують гарячою водою у співвідношенні 1:15-1:20, з наступним просвітленням, фільтруванням та ліофілічним висушуванням кінцевого продукту.

Удосконалений спосіб екстрагування бруньок берези дає можливість одержати ліофілізовану фітокомпозицію з виходом біологічно активних речовин в кількості 12,8-17,3%, які проявляють значну інтерфероніндукуючу активність.

Запропонований спосіб здійснюють таким чином.

Сухі бруньки берези (*Betula pendula*) подрібнюють на дрібний порошок розміром 1-3мм, екстрагують діючі речовини очищеною водою при температурі 90-95°C у співвідношенні 1:15-1:20 впродовж 30-60хв і проціджують. Екстракцію проводять 3-4 рази, після чого об'єднані екстракти просвітлюють впродовж 10-15год, фільтрують і висушують.

Одержаний екстракт являє собою комплекс біологічно активних речовин у вигляді гігроскопічного аморфного порошку жовто-коричневого кольору без запаху і з терпким смаком. Вихід кінцевого продукту становить 12,8-17,3%. У ліофілізаті, умовно позначеному "РС", виявлені терпеноїди, дубильні речовини, сапоніни, полісахариди, фенолкарбонові кислоти та інші фенольні сполуки.

Спосіб ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. 50г подрібнених в порошок сухих бруньок берези заливали 750мл доведеної до кипіння очищеної води і настоювали впродовж 30хв на водяній лазні при температурі 90°C. Екстракцію в круглодонній колбі ємністю 1,5л повторювали ще тричі, після чого екстракти об'єднували, відстоювали впродовж 10год при температурі 8-10°C і фільтрували. Фільтрати розливали у флакони по 250мл і висушували за допомогою сублімаційного апарату КС-30. Вихід кінцевого продукту становив 12,8%.

Приклад 2. 50г подрібненої лікарської рослинної сировини берези повислої екстрагували в круглодонній колбі ємністю 2,0л доведеною до кипіння очищеною водою у співвідношенні сировина - екстрагент 1:20 на водяному огрівнику при 93°C впродовж 45хв. Аналогічний спосіб виділення біологічно активних речовин повторювали ще двічі, після чого об'єднані екстракти освітлювали при температурі 8-10°C, фільтрували і проводили ліофільне висушування. Вихід ліофілізованого фітоекстракту становив 15,7%.

Приклад 3. 50г висушеної і подрібненої рослинної сировини берези повислої вносили в круглодонну колбу ємністю 1500мл, заливали доведеною до кипіння очищеною водою в об'ємі 850мл, настоювали впродовж 60хв. при 95°C на водяній лазні і після чого проціджували. Вказану екстракцію аналогічно проводили ще 3 рази. Отримані витяги об'єднували, 15год. відстоювали, потім фільтрували і ліофільне висушували. Вихід кінцевого продукту становив 17,3%.

Вивчення інтерфероніндукуючої дії екстрактів здійснювали в дослідах на мишах лінії СВА згідно з вимогами і методами, рекомендованими для оцінки індукторів інтерферону [3].

Отримані фітозасоби вводили тваринам масою 12-14г одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) в дозах 75-150мг/кг, що відповідали 1/3-1/6 ЛД₅₀. Через 5, 24, 48 і 72год у них проводили забір крові, використавши на кожну експериментальну умову по 4 миші. В одержаних пробах сироваток крові визначали рівень інтерферону мікрометодом в культурі клітин L-929 за затримкою цитопатичної дії (ЦПД) тест-вірусу енцефаломіокардиту мишей (ЕМС).

Для порівняльної характеристики і оцінки активності досліджуваних екстрактів в якості прототипу за характером дії використовували відомий комерційний препарат аналогічного призначення - аміксин, який застосовували за оптимальною для нього схемою введення: перорально (п/о) в дозі 200мг/кг [4, 5].

Результати вивчення відібраних варіантів фітозасобу РС, що відображають суть запропонованого способу, наведені нижче в таблиці. Із її даних видно, що отримані екстракти володіють вираженою інтерфероніндукуючою активністю, які не поступаються за інтенсивністю дії вищезгаданому прототипу. Так, встановлено, що ліофілізати РС-1, РС-2 і РС-3 в дозі 150мг/кг індукують у мишей інтерферон в титрах 320-640од/мл з піком активності через 24год. після введення. В цих же умовах експерименту аміксин викликав подібне за динамікою інтерфероноутворення в аналогічній кількості - 640од/мл. Помітну стимуляцію інтерфероногенезу (40-80од/мл) реєстрували і при застосуванні вказаних варіантів РС в дозі 75мг/кг, що підтверджує їх виражену здатність індукувати інтерферон.

Наведені результати вказують на високу інтерфероніндукуючу активність одержаних із бруньок берези екстрактів, які за інтенсивністю стимуляції інтерферонової системи не поступаються відомому комерційному індуктору інтерферону аміксину.

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що удосконалений спосіб одержання рослинного екстракту дозволяє отримати новий хімічно стабільний ліофілізований комплекс сполук, який володіє високою інтерфероніндукуючою активністю - на рівні відомого комерційного препарату аміксину. Виявлена властивість запропонованого фітозасобу дозволяє рекомендувати вищезгаданий спосіб для одержання ефективного індуктора інтерферону - потенційного противірусного і антибактеріального препарату для профілактики і лікування багатьох різноетіологічних інфекцій.

Таблиця

Порівняльна оцінка інтерфероніндукуючої активності відібраних фітоекстрактів РС і аміксину

Препарати	Доза в мг/кг	Титри інтерферону в од/мл в крові мишей через:			
		5год	24год	48год	72год
РС-1	150, в/о	20	320-640	10-20	<10
	75, в/о	<10	40	<10	<10
РС-2	150, в/о	10-20	320	10	<10
	75, в/о	<10	20-40	<10	<10
РС-3	150, в/о	20	640	20	<10
	75, в/о	<10	40-80	<10	<10
Аміксин	200, г/о	20	640	10	<10

Джерела інформації

1. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник. / Відп. ред. А.М. Гродзінський. - К.: Голов. ред. УРЕ, 1989. - С. 56-58.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М. : Медицина, 2002, Т. 1. - С. 492.
3. Чижов Н.П., Ершов Ф.И., Индулен М.К. Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. - Рига, :Зинатне, 1988. - 171с.
4. Андронати С.А., Литвинова Л.А., Головенко Н.Я. Пероральный индуктор эндогенного интерферона - "Амиксин" и его аналоги (обзор литературы и собственных исследований) // Журн. АМН Украины. - 1999. - Т. 5, №1. - С. 53-65.
5. Ершов Ф.И. Антивирусные препараты. - М. : Медицина, 1998. - С. 90-91.