



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 52930

(13) A

(51) 7 A61K35/78

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ РОСЛИННОГО ЕКСТРАКТУ З ІНТЕРФЕРОНІНДУКУЮЧОЮ АКТИВНІСТЮ

1

2

(21) 2001118081

(22) 26 11 2001

(24) 15 01 2003

(46) 15 01 2003, Бюл. № 1, 2003 р.

(72) Козловський Михайло Михайлович, Бензель
Леонід Васильович, Лозинський Ігор Миколайович,
Білецька Галина Вацлавівна, Пластунов Валерій
Анатолієвич, Друль Оксана Стефанівна(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ
ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ГІГІЄНИ
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

(57) Спосіб отримання рослинного екстракту з інтерфероніндукуючою активністю, що включає використання рослинної сировини з її подрібненням та екстракцією, який відрізняється тим, що як сировину використовують надземну частину видів роду герань, а саме герані болотної (*Geranium palustre*) або герані лісової (*G. sylvaticum*), або герані лучної (*G. pratense*), або герані криваво-червоної (*G. sanguineum*), яку 3-4 рази екстрагують гарячою водою у співвідношенні 1:15-1:20 з наступним просвітленням та ліофілічним висушуванням кінцевого продукту

Винахід відноситься до медицини, а саме до фармакогнозії і стосується створення нового рослинного засобу, виділеного з трави видів роду герань

У народній медицині використовуються настої та відвари з надземних і підземних частин рослин роду герань як протизапальні, антисептичні і в'яжучі засоби [1]. Відомі способи одержання таких засобів, основні умови виконання яких включають настоювання впродовж 8 год 1 - 2 чайних ложок сухої трави у 200 мл холодної води, доведення її до кипіння, повторне настоювання протягом 2 год і проціджування, не дозволяють максимально екстрагувати основні діючі речовини з рослинної сировини, а самі фітозасоби мають обмежений термін зберігання (до 2 - 3 діб).

Недоліком зазначених способів є також те, що вони не дозволяють одержати лікарський засіб у вигляді стійкої субстанції, придатної до застосування в медичній практиці, і який не володіє інтерфероніндукуючими властивостями, через що має досить вузький спектр дії на патогенні мікроорганізми.

В основу винаходу поставлено завдання удосконалення способу отримання рослинного екстракту з інтерфероніндукуючою активністю, в якому шляхом проведення кількаретового екстрагування рослинної сировини забезпечити повноту екстракції та високий вихід готового продукту в кількості 19 - 24% від вихідної сировини, за рахунок чого він набуває стабільності на протязі 2 - 3 років і проявляє інтерфероніндукуючу дію.

Поставлене завдання вирішується тим, що

спосіб отримання рослинного екстракту з інтерфероніндукуючою активністю, яке включає використання рослинної сировини з її подрібненням та екстракцією, згідно винаходу в якості сировини використовують надземну частину видів роду герань, а саме герані болотної (*Geranium palustre*), або герані лісової (*G. sylvaticum*), або герані лучної (*G. pratense*) або герані криваво-червоної (*G. sanguineum*), яку 3 - 4 рази екстрагують гарячою водою у співвідношенні 1:15 - 1:20, з наступним просвітленням та ліофілічним висушуванням кінцевого продукту.

Удосконалений спосіб екстрагування трави рослин роду герань дає можливість одержати кінцевий ліофілізований продукт з виходом біологічно активних речовин в кількості 19,7 - 24,6%, які проявляють значну інтерфероніндукуючу активність.

Запропонований спосіб здійснюють таким чином.

Попередньо висушену траву рослин роду герань (болотної, лісової, лучної чи криваво-червоної) подрібнюють на порошок з діаметром 0,5 - 1 мм, екстрагують доведеною до кипіння дистильованою водою у співвідношенні 1:15 - 1:20 впродовж 15 - 45 хв і проціджують. Таку екстракцію проводять 3 - 4 рази, після чого об'єднані екстракти просвітлюють впродовж 10 - 15 год, фільтрують і проводять їх сублімаційну сушку.

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 19,7 - 24,6% у

(13) A

(11) 52930

(19) UA

люфілізати, умовно позначеному "БС", виявлені дубильні речовини, сапоніни, полісахариди, фенолкарбонові кислоти та інші фенольні сполуки

Спосіб ілюструється наступними прикладами

Приклад 1 50г попередньо висушеної і подрібненої в дрібний порошок трави герані болотної заливали 750мл доведеної до кипіння дистильованої води і настоювали в продовж 15хв при температурі повітря 40°C Екстракцію в кругло донній колбі ємністю 1,5л повторювали ще тричі, після чого екстракти об'єднували, відстоювали впродовж 12год і фільтрували Фільтрати розливали у флакони по 500мл і висушували за допомогою сублімаційного апарату типу КС-30 Вихід кінцевого продукту становив 23,1%

Приклад 2 50г висушеної і подрібненої в дрібний порошок трави герані лісової та окремо герані лучної екстрагують в круглодонній колбі ємністю 2,0л доведеною до кипіння дистильованою водою у співвідношенні сировина-екстрагент 1:20 впродовж 30хв Дану процедуру повторюють ще двічі, після чого всі об'єднані екстракти з кожного виду рослини 15год просвітлюють, фільтрують і проводять їх люфільне висушування Вихід кінцевих продуктів, виділених окремо з герані лісової і герані лучної, відповідно становили 19,7 і 24,7%

Приклад 3 50г висушеної і дрібноподрібненої трави герані криваво-червоної вносили в круглодонну колбу ємністю 1500мл, заливали доведеною до кипіння дистильованою водою в об'ємі 850мл, настоювали протягом 45хв і після цього проціджували Екстракцію проводили 3 рази Отримані рідкі фракції об'єднували, 13год відстоювали, потім фільтрували і люфільно висушували Вихід кінцевого продукту становив 24,0%

В процесі розробки запропонованого способу, використовуючи різні технологічні умови його здійснення із застосуванням кожного виду рослини, отримано ряд люфілізатів, які досліджували на інтерфероніндукуючу активність

Вивчення інтерфероніндукуючої дії екстрактів проводили в досліді на мишах лінії СВА згідно з вимогами і методами, рекомендованими для оцінки індукторів інтерферону [2]

Отримані фітозасоби вводили тваринам масою 12 - 14г одноразово внутрішньоочеременно (в/о) в оптимальних дозах 50мг/кг, що відповідали 1/4 - 1/5ЛД₅₀ Через 5, 24, 48 і 72год у них проводили забір крові, використовавши на кожну експериментальну умову по 4 миші В одержаних пробах сироваток крові визначали рівень інтерферону мікрометодом в культурі клітин L-929 по затримці 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 - ридостин, який застосовували за оптимальною для нього схемою введення в/о в дозі 10мг/кг [3, 4]

Результати вивчення відібраних варіантів фітозасобу БС, що відображають суть запропонованого способу, наведені нижче в таблиці Із її даних видно, що отримані екстракти володіють вираже-

ною інтерфероніндукуючою активністю, які не поступаються за інтенсивністю дії вказаному прототипу, а в деяких випадках перевищують його ефект Так встановлено, що люфілізати БС-1 і БС-4 індукують у мишей інтерферон в титрах 2560-5120од/мл з піком активності через 24год після введення, в той час як ридостин в аналогічних умовах експерименту викликав "раннє" інтерферонотворення в кількості 2560од/мл Значну концентрацію інтерферону (1280 - 2560од/мл) реєстрували і при застосуванні варіантів БС-2 і БС-3, що відповідали рівню активності прототипу

Приведені результати вказують на високу інтерфероніндукуючу активність одержаних із вказаних рослин роду герань екстрактів, які по інтенсивності стимуляції інтерфероногенезу не лише не поступаються відомому індуктору інтерферону ридостину, але в деяких варіантах і перевищують його

Таблиця

Порівняльна оцінка інтерфероніндукуючої активності відібраних фітоекстрактів БС і ридостину

| Препарати | Доза в мг/кг | Титри інтерферону в од/мл в крові мишей через | | | |
|-----------|--------------|---|-------------|-------|-------|
| | | 5год | 24год | 48год | 72год |
| БС-1 | 50 | 40 | 5120 | 80 | 10 |
| БС-2 | 50 | 20 | 2560 | 40 | <10 |
| БС-3 | 50 | 10 - 20 | 1280 - 2560 | 20 | <10 |
| БС-4 | 50 | 20 | 2560 - 5120 | 40-80 | 10 |
| Ридостин | 10 | 2560 | 40 - 80 | 10 | <10 |

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що удосконалений спосіб одержання рослинного екстракту дозволяє отримати новий фітохімічний комплекс сполук, який здатний перевищувати інтерфероніндукуючу активність відомого комерційного препарату ридостину Виявлена властивість, а також встановлена невисока гостра токсичність досліджуваних фітоекстрактів дозволяє пропонувати вищезгаданий спосіб для одержання високо-ефективного індуктора інтерферону - потенційного противірусного і антибактеріального препарату для профілактики і лікування багатьох поліетіологічних інфекцій

Джерела інформації

1 Лікарські рослини Енциклопедичний довідник / Відп ред А М Гродзінський -К Голова, ред УРЕ, 1989 -С 100 - 102

2 Чижов Н П, Ершов Ф И, Индулен М К Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций -Рига, Зинатне, 1988 -171с

3 Ридостин - новый перспективный препарат неспецифической защиты организма от вирусной инфекции //И В Тимофеев, Т Ф Палецкая, Н Г Казанков и др //Интерферон-92 -М, 1992 - С 143 - 149

4 Ершов Ф И Антивирусные препараты -М Медицина, 1998 -С 97 - 100

