



УКРАЇНА

(19) UA (11) 65519 (13) U
(51) МПК (2011.01)
A61K 36/00
A61K 135/00 (2006.01)
A61P 31/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З АНТИМІКРОБНОЮ АКТИВНІСТЮ З ТРАВИ ПІДМАРЕННИКА СПРАВЖНЬОГО

1

2

(21) u201105767

(22) 10.05.2011

(24) 12.12.2011

(46) 12.12.2011, Бюл.№ 23, 2011 р.

(72) ГОРЯЧА ОЛЬГА ВОЛОДИМИРІВНА, КАШПУР НАТАЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА, ІЛЬІНА ТЕТЯНА ВАСИЛІВНА, ВОЛЯНСЬКИЙ АНДРІЙ ЮРІЙОВИЧ, КОМСАРЕНКО АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, АБДУЛКА-ФАРОВА ЕЛЬМІРА РАМІЗІВНА, ГРУДЬКО ІРИНА ВОЛОДИМИРІВНА, ОЧКУР ОЛЕКСАНДР ВАСИЛЬОВИЧ, КОВАЛЬОВА АЛЛА МИХАЙЛІВНА, АНДРУСЕНКО ОЛЕКСАНДР ВАСИЛЬОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб одержання засобу з антимікробною активністю з трави підмаренника справжнього шляхом попередньої обробки рослинної сировини хлороформом, багаторазовою екстракцією отриманого шроту органічним розчинником з наступним концентруванням, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують траву підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), екстракцію здійснюють етилацетатно-спиртовою сумішшю (8:2) з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі при загальному співвідношенні сировина : екстрагент 1:10-1:15 при постійно підтримуваній температурі 70-75 °С протягом 12 годин.

Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до способів одержання засобів рослинного походження з антимікробною активністю, а саме з трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), який може бути використано як активну субстанцію при створенні відповідних лікарських препаратів у різних лікарських формах.

Відомий спосіб одержання ранозагоювального та антимікробного засобу [1] шляхом трикратної екстракції листя горіху волоського 35-45 % спиртом етиловим при загальному співвідношенні сировина : екстрагент 1:5 з попереднім замочуванням сировини у 35-45 % спирті етиловому при співвідношенні 1:1, при чому першу екстракцію проводять при співвідношенні сировина : екстрагент 1:3 протягом 24-48 годин, другу і третю - при співвідношенні сировина : екстрагент 1:1 протягом 6-12 годин кожна. Одержані екстракти об'єднують, відстоюють протягом 3 діб при 6-10 °С, фільтрують, концентрують до одержання густого або сухого екстракту.

До недоліків відомого способу можна віднести його тривалість від мінімально можливих 108 годин до 144 годин. Певні труднощі для технологічного процесу можуть становити зміни режиму екстрагування при трикратній екстракції та

необхідність використання холодильного пристрою для відстоювання [1].

Відомий спосіб одержання засобу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією з листя груші звичайної [2] шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини 10 % спиртом етиловим при співвідношенні сировина : екстрагент 1:9-1:11 протягом 9-11 годин з подальшим упарюванням об'єданого екстракту до 1/18-1/20 попереднього об'єму. Вміст сухого залишку у готовому продукті становить 24,3 %.

Недоліком наведеного способу є багатостадійність, що ускладнює його здійснення у виробничих умовах, надмірні витрати спирту етилового [2].

Відомий спосіб одержання засобу з антимікробною активністю з листя евкالیпту прутовидного [3] шляхом трикратної екстракції рослинної сировини 96 % спиртом етиловим або етилацетатом при співвідношенні сировина : екстрагент 1:3-1:20 протягом доби з подальшими фільтрацією та упарюванням об'єданого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищенням екстракту шляхом розчинення в 3-кратній кількості гексану або бензин-калоші та додавання 4 % розчину сульфату міді. Вихід цільового продукту - 10,5 %.

Недоліками наведеного способу є багатостадійність та надмірні витрати токсичних органічних

UA (11) 65519 (13) U

розчинників (гексану або бензин-калоші), що здорожчує, ускладнює виконання способу та робить більш небезпечним процес отримання екстракту [3].

Задача корисної моделі полягає у створенні способу одержання засобу рослинного походження шляхом екстракції трави підмаренника справжнього, в результаті чого одержують засіб з антимікробною активністю.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання антимікробного засобу шляхом попередньої обробки рослинної сировини хлороформом, багаторазовою екстракцією отриманого шроту органічним розчинником з наступним концентруванням, згідно з корисною моделлю як рослинну сировину використовують заготовлену у фазі цвітіння траву підмаренника справжнього, екстракцію здійснюють етилацетатно-спиртовою сумішшю (8:2) при загальному співвідношенні сировина : екстрагент. 1:10-1:15, при постійно підтримуваній температурі 70-75 °С з рециркуляцією екстрагента у замкнутому циклі протягом 12 годин.

Корисною моделлю передбачено, що як рослинна сировина використовується трава підмаренника справжнього. Підмаренник справжній (*Galium verum* L.) - багаторічна трав'яниста рослина родини маренові (Rubiaceae Juss.), широко використовується у народній медицині з лікувальною метою як сечогінний, кровоспинний, протизапальний, антисептичний, знеболюючий і седативний засіб.

Знежирення рослинної сировини хлороформом проводили для видалення ліпофільного комплексу. Нами експериментально доведено, що спектр біологічної активності засобу, одержаного за заявленим способом, обумовлений фенольними сполуками, які не екстрагуються хлороформом.

Експериментальним шляхом встановлено, що ефективним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини до екстрагента як 1:10 - 1:15. При цьому, якщо співвідношення менше 1:10, то не забезпечується достатня екстракція БАР, що призводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Якщо співвідношення більше 1:15, то це призводить до ускладнення та подовження технологічного процесу, збільшення використання розчинника та енерговитрат.

Отриманий екстракт трави підмаренника справжнього - це густа, в'язка маса бурого кольору.

Всі параметри заявленого способу визначено експериментальним шляхом з урахуванням біологічної активності одержаного засобу, ефективності, доступності та нешкідливості реактивів, практичного відтворення способу у промислових умовах. Сукупність ознак заявленого способу є новою, невідомою з джерел інформації.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Заготовлену у фазі цвітіння і подрібнену траву підмаренника справжнього піддають вичерпній екстракції хлороформом при загальному співвідношенні сировина : екстрагент 1:10-1:12 та загальній тривалості екстракції - 28-32 годин при температурі 55-60°C з подальшою фільтрацією одержаного хлороформного екстракту.

Висушений на повітрі при кімнатній температурі шрот вичерпно екстрагують у замкнутому циклі етилацетатно-спиртовою сумішшю (8:2) при загальному співвідношенні сировина : екстрагент 1:10-1:15 протягом 12 годин при постійно підтримуваній температурі 70-75 °С. Одержаний екстракт упарюють у вакуумі до густого екстракту.

Вихід цільового продукту складає 14,90 % від повітряно-сухої ваги сировини.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. 1 кг заготовленої у фазі цвітіння і подрібненої повітряно-сухої трави підмаренника справжнього завантажили у циркуляційний екстрактор, залили 10 л хлороформу та вичерпно екстрагували при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С протягом 30 годин. Одержаний знежирений шрот сушили на повітрі при кімнатній температурі, потім завантажили в циркуляційний екстрактор, залили 10 л етилацетатно-спиртової суміші (8:2) та екстрагували протягом 12 годин при постійно підтримуваній температурі 70-75 °С. Одержаний екстракт відфільтрували і концентрували під вакуумом до одержання густого продукту.

Вихід цільового продукту склав 14,90 %.

Приклад 2. Антимікробну активність екстракту з трави підмаренника справжнього, одержаного за заявленим способом, вивчали, використовуючи методи дифузії в агар та серійних розведень [4, 5]. Для оцінки активності екстракту використовували стандартні штами мікроорганізмів, регламентовані ВООЗ для вивчення антибактеріальної дії препаратів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* 885-663. Для визначення антимікробної активності культури мікроорганізмів вирощували на м'ясопептонному агарі при температурі 37 °С. Термін культивування мікроорганізмів складав 24 години. Для кількісної оцінки антимікробної активності екстракту та визначення мінімальної пригнічуючої ріст мікроорганізмів концентрації використовували метод серійних розведень.

Екстракт з трави підмаренника справжнього використовували у вигляді 2 % спиртового розчину. Результати проведених досліджень наведені в таблиці.

Таблиця

Вивчення антимікробної активності екстракту з трави
підмаренника справжнього, одержаного за заявленим способом

Тест-штами мікроорганізмів	Діаметр зон затримки росту, мм	*МБСК, мкг/мл	**МБЦК, мкг/мл
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	30,3±0,4	62,5	125
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12,1±0,2	250	500
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	20,2±0,3	125	250
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	13,1±0,2	250	500
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	20,0±0,3	125	250
<i>C. albicans</i> ATCC 885-663	10,0±0,1	250	500

Примітка: *МБСК - мінімальна бактеріостатична концентрація;

**МБЦК - мінімальна бактерицидна концентрація

Аналіз даних таблиці свідчать, що екстракт з трави підмаренника справжнього, одержаний за заявленим способом, проявляє антимікробну активність по відношенню до усіх тест-штамів мікроорганізмів. Діаметри зон затримки росту складають 10-30 мм, що вказує на чутливість мікроорганізмів до екстракту. Досліджуваний екстракт виявив слабку дію лише по відношенню до *C. albicans*.

Таким чином, заявлено спосіб одержання екстракту з трави підмаренника справжнього з антимікробною активністю. Заявлений спосіб простий, економічний, передбачає використання доступної вітчизняної сировини, може бути здійснений на будь-якому фармацевтичному підприємстві зі стандартним обладнанням.

Екстракт, одержаний за заявленим способом, проявляє виражену антимікробну активність і є перспективним для створення нових лікарських засобів зазначеної дії.

Джерела інформації

1. Патент на винахід 44927, Україна, МПК (2006) А61К36/18, А61Р17/02 (2007.01). Спосіб одержання ранозагоювального та антимікробного

засобу. Заявка 99052778, Заявл. 20.05.1999; Опубл. 15.03.2002, Бюл. № 3.

2. Патент на винахід 77347, Україна, МПК (2006) А61К36/185, А61К127/00 (2007.01), А61Р29/00, А61Р31/00, А61Р13/00. Спосіб одержання засобу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією із листя груші. Заявка а200503996, Заявл. 26.04.2005; Опубл. 15.11.2006, Бюл. № 11.

3. Патент на винахід 89926, Україна, МПК (2006) А61К36/61 (2006.01), А61Р31/00. Спосіб одержання засобу з антимікробною активністю з листя евкаліпту. Заявка а200903866, Заявл. 21.04.2009; Опубл. 10.03.2010, Бюл. № 5.

4. Микробиологія: Метод. рек. для студ. фармацевт. высш. учеб. завед. // И.Л. Дикий, И.Ю. Холупяк, М.М. Великая, Л.С. Стрельников, Н.Е. Шевелева, Л.Ф. Силаева, М.Ю. Стегний, О.Г. Гейдерих, Н.И. Филимонова. - Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2004. - 144с.

5. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. / Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Широбоков В.П. і співавт. -Київ, - 2004.-40С.