



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 76000

(13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 36/185

A61P 37/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ РОСЛИННОГО ЕКСТРАКТУ, СТИМУЛЮЮЧОГО УТВОРЕННЯ ІНТЕРФЕРОНУ

1

(21) 20040604691

(22) 15.06.2004

(24) 15.06.2006

(46) 15.06.2006, Бюл. № 6, 2006 р.

(72) Козловський Михайло Михайлович, Бензель Леонід Васильович, Лозинський Ігор Миколайович, Федорук Володимир Ілл'яч, Друль Оксана Стефанівна, Білецька Галина Вацлавівна, Бензель Ігор Леонідович

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ГІГІЄНИ МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, Козловський Михайло Михайлович, Бензель Леонід Васильович

(56) Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник./ Відп. ред. А.М. Гродзінський. - К.: Голов, ред. УРЕ, 1989. - С. 49-50

2

Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей. - М.: Мед. информ. агентство, 2000. - С. 260 - 261

Кожух І.О. Фармакологічне дослідження рослин роду *Бадан*: Авто-реф.дис...канд.фармац.наук: 15.00.02, Нац.Фармац. ун-т. - Х., 2002. - 19 с.(57) Спосіб отримання рослинного екстракту, стимулюючого утворення інтерферону, що включає використання рослинної сировини з її висушуванням, подрібненням та екстракцією, який **відрізняється** тим, що як сировину використовують листя бадану товстолистого, які 3-4 рази екстрагують гарячою водою у співвідношенні 1:15 - 1:20 з наступним просвітленням, фільтруванням та ліофільним висушуванням кінцевого продукту.

Винахід відноситься до фармацевтичної галузі медицини і може бути використаний на основі біологічно активних речовин, виділених із листя бадану товстолистого (*Bergenia crassifolia*), для створення нового лікарського засобу, стимулюючого в організмі утворення інтерферону, із біологічно активної субстанції з широким спектром дії на патогенні мікроорганізми.

У медичній практиці та народній медицині застосовують настої і відвари кореневищ бадану товстолистого як кровоспинні, протизапальні та бактерицидні засоби в гінекології, стоматології і гастроентерології [1]. Відомі способи одержання таких засобів, основні умови виконання яких включають відварювання 10 г подрібненої сировини у 200 мл окропу на малому вогні до випарювання половини початкового об'єму з наступним процідженням рідкого екстракту, не дозволяють максимально виділити 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 рослинного екстракту, стимулюючого утворення інтерферону, в якому шляхом проведення кількаретового екстрагування до максимального виснаження рослинної сировини необхідно забезпечити повноту екстракції та високий вихід готового ліофілізованого продукту в кількості 31,7 - 36,4% 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 рослинного екстракту, стимулюючого утворення інтерферону, яке включає використання рослинної сировини з її подрібненням та екстракцією, згідно винаходу в якості сировини використовують висушені листя бадану товстолистого, яку 3-4 рази екстрагують гарячою водою у співвідношенні 1:15 - 1:20, з наступним просвітленням, фільтруванням та ліофільним висушуванням кінцевого продукту.

Удосконалений спосіб екстрагування листя бадану товстолистого дає можливість одержати ліофілізовану фітокомпозицію з виходом біологічно активних речовин в кількості 31,7 - 36,4 %, які проявляють значну інтерфероніндукуючу активність.

(13) C2

(11) 76000

(19) UA

Запропонований спосіб здійснюють таким чином.

Сухе листя бадану товстолистого (*Bergenia crassifolia*) подрібнюють на дрібний порошок розміром 1-3 мм, екстрагують діючі речовини очищеною водою при температурі 90 - 95° С у співвідношенні 1 : 15 - 1 : 20 впродовж 30-60 хв і проціджують. Екстракцію проводять 3-4 рази, після чого об'єднані екстракти просвітлюють впродовж 10-15 год, фільтрують і висушують.

Одержаний екстракт являє собою комплекс біологічно активних речовин у вигляді гігроскопічного аморфного порошку світло-коричневого кольору з легким специфічним запахом і з терпким смаком. Вихід кінцевого продукту становить 31,7 - 36,4 %. У ліофілізаті, умовно позначеному "АН", виявлені дубильні речовини, фенологікозиди, полісахариди, фенолкарбонові кислоти та інші фенольні сполуки. Вміст поліфенольних сполук у фітосубстанції становить 67%, дубильних речовин - 31 %, арбутину-33%.

Спосіб ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. 50 г подрібнених в порошок сухих листків бадану товстолистого заливали 750 мл доведеної до кипіння очищеної води і настоювали впродовж 30 хв на водяній лазні при температурі 90° С. Екстракцію в круглодонній колбі ємністю 1,5 л повторювали ще тричі, після чого екстракти об'єднували, відстоювали впродовж 10 год при температурі 8 - 10° С і фільтрували. Фільтрати розливали у флакони по 250 мл і висушували за допомогою сублимаційного апарату КС-30. Вихід кінцевого продукту становив 31,7%.

Приклад 2. 50 г подрібненої лікарської рослинної сировини бадану товстолистого екстрагували в круглодонній колбі ємністю 2,0 л доведеною до кипіння очищеною водою у співвідношенні сировина - екстрагент 1:20 на водяному огрівнику при 93° С впродовж 45 хв. Аналогічний спосіб виділення біологічно активних речовин повторювали ще двічі, після чого об'єднані екстракти освітлювали при температурі 8-10°С, фільтрували і проводили ліофільне висушування. Вихід ліофілізованого фітоекстракту становив 32,9 %.

Приклад 3. 50 г висушеної і подрібненої рослинної сировини бадану товстолистого вносили в круглодонну колбу ємністю 1500 мл, заливали доведеною до кипіння очищеною водою в об'ємі 850 мл, настоювали впродовж 60 хв при 95° С на водяній лазні і після чого проціджували. Вказану екстракцію аналогічно проводили ще 3 рази.

Отримані витяги об'єднували, 15 год відстоювали, потім фільтрували і ліофільно висушували. Вихід кінцевого продукту становив 36,4 %.

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

Отримані фітозасоби вводили тваринам масою 12-14 г одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) в дозах 140 і 70 мг/кг, що відповідали 1/3-1/6 ЛД50. Через 5, 24, 48 і 72 год 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.

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 200 мг/кг [3].

Результати вивчення відібраних варіантів фітозасобу АН, що відображають суть запропонованого способу, наведені нижче в таблиці. Із її даних видно, що отримані екстракти володіють вираженою інтерферон-індукуючою активністю, які не лише не поступаються за інтенсивністю дії вищезгаданому прототипу, але в окремих випадках навіть і перевищують його активність. Так, встановлено, що ліофілізати АН-1 і АН-2 в дозі 140 мг/кг індукують у мишей інтерферон в титрах 640-1280 од/мл з піком активності через 24 год після введення, а взірець АН-3 забезпечував циркуляцію в крові 1280-2560 од/мл даного цитокіну. В цих же умовах експерименту аміксин викликав подібне за динамікою інтерфероноутворення в кількості — 640-1280 од/мл. Помітну стимуляцію інтерферогенезу (40-80 од/мл) реєстрували і при застосуванні вказаних варіантів АН в дозі 70 мг/кг, що підтверджує їх виражену здатність індукувати інтерферон.

Наведені результати вказують на високу інтерфероніндукуючу активність одержаних із листків бадану товстолистого екстрактів, які за інтенсивністю стимуляції інтерферонові системи здатні переважати активність відомого комерційного індуктора інтерферону аміксину.

Таблиця

Порівняльна оцінка інтерфероніндукуючої активності відібраних рослинних екстрактів АН і аміксину

Препарати	Доза в мг/кг	Титри інтерферону в од/мл в крові мишей через:			
		5 год	24 год	48 год	72 год
АН-1	140, в/о	20	1280	10-20	<10
	70, в/о	<10	40-80	<10	<10
АН-2	140, в/о	10-20	640	10	<10
	70, в/о	<10	20-40	<10	<10
АН-3	140, в/о	20-40	1280-2560	20	<10
	70, в/о	<10	80	<10	<10
Аміксин	200, п/о	20	640-1280	10	<10

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

і онкологічних хвороб.

Джерела інформації:

1. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник./ Відп. ред. А.М. Гродзінський. -К.: Голов, ред. УРЕ, 1989. -С. 49-50.

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

3. 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.