



УКРАЇНА

(19) UA (11) 78927 (13) C2

(51) МПК

A61K 36/73 (2007.01)

A61P 37/04 (2007.01)

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

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ СТИМУЛЮЮЧОГО ІНТЕРФЕРОНОУТВОРЕННЯ ФІТОЗАСОБУ З ПЕРСТАЧУ БІЛОГО (POTENTILLA ALBA)

1

(21) а200510594

(22) 09.11.2005

(24) 25.04.2007

(46) 25.04.2007, Бюл. № 5, 2007 р.

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

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ГІГІЄНИ МОЗ УКРАЇНИ, Козловський Михайло Михайлович, Бензель Леонід Васильович

2

(56) UA 53430 A, 15.02.2003

UA 4655 U, 17.01.2005

US 6 193 975 B1, 27.02.2001

(57) Спосіб приготування фітозасобу, стимулюючого інтерферонуутворення, що включає використання сухої рослинної сировини з її подрібненням та екстракцією, який відрізняється тим, що як сировину використовують підземну частину перстачу білого, яку 3-4 рази екстрагують гарячою водою у співвідношенні 1:15-1:20 з наступним освітленням, фільтруванням та ліофільним висушуванням кінцевого продукту.

Винахід відноситься до фармацевтичної галузі медицини і може бути використаний на основі біологічно активних речовин, виділених із кореневищ перстачу білого (*Potentilla alba*), для створення нового лікарського засобу, стимулюючого в організмі утворення інтерферону -біологічно активної субстанції з широким спектром дії на патогенні мікроорганізми.

У медичній практиці та народній медицині застосовують настої і відвари кореневищ перстачу білого як ефективні засоби для лікування захворювань тиреотоксикозу [1]. Відомі способи одержання таких засобів, основні умови виконання яких включають настоювання 10г сухої подрібненої сировини у 200мл окропу з наступним процідженням настою, 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 організм.

В основу винаходу поставлено завдання удосконалення способу отримання рослинного екст-

ракту, стимулюючого утворення інтерферону, в якому шляхом проведення кількісного екстрагування до максимального виснаження рослинної сировини необхідно забезпечити повноту екстракції та високий вихід готового ліофілізованого продукту в кількості 24,5-28,3% від вихідної сировини, за рахунок чого він набуває стабільності впродовж 2-3 років і проявляє здатність стимулювати в макроорганізмі утворення інтерферону.

Дане завдання вирішується тим, що спосіб отримання фітозасобу, стимулюючого інтерферонуутворення, яке включає використання сухої рослинної сировини з її подрібненням та екстракцією, згідно винаходу в якості сировини використовують підземну частину перстачу білого, які 3-4 рази екстрагують гарячою водою у співвідношенні 1:15-1:20, з наступним просвітленням, фільтруванням та ліофільним висушуванням кінцевого продукту.

Удосконалений спосіб екстрагування кореневищ перстачу білого дає можливість одержати ліофілізовану фітокомпозицію з виходом біологічно активних речовин в кількості 24,5-28,3%, які проявляють значну інтерфероніндукуючу активність.

Запропонований спосіб здійснюють таким чином.

Суші кореневища перстачу білого (*Potentilla alba*) подрібнюють на дрібний порошок розміром 1-

(13) C2

(11) 78927

(19) UA

3 мм, 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 світло-коричневого кольору з легким специфічним запахом і з терпким смаком. Вихід кінцевого продукту становить 24,5-28,3%. У ліофілізаті, умовно позначеному "ПБ", виявлені дубильні речовини, сапоніни, полісахариди, фенолкарбонові кислоти та інші фенольні сполуки. Вміст поліфенольних сполук у фітосубстанції становить 42,1%, дубильних речовин - 35,7%, полісахаридів - 6,5%.

Спосіб ілюструється наступними прикладами:

Прикладі. 50г подрібнених в порошок сухих кореневих перстачу білого заливали 750мл доведеної до кипіння очищеної води і настоювали впродовж 30хв на водяній лазні при температурі 90°C. Екстракцію в круглодонній колбі ємкістю 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 24,5%.

Приклад 2. 50г подрібненої лікарської рослинної сировини перстачу білого екстрагували в круглодонній колбі ємкістю 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 26,7%.

Приклад 3. 50г висушеної і подрібненої рослинної сировини перстачу білого вносили в круглодонну колбу ємкістю 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 фі-

льтрували і ліофільно висушували. Вихід кінцевого продукту становив 28,3%.

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

Отримані фітозасоби вводили тваринам масою 12-14г одноразово доочередово (д/о) в дозах 200 і 100мг/кг, що відповідали 1/3-1/6 ЛД₅₀. Через 5, 24, 48 і 72 год 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 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 200мг/кг [3].

Результати вивчення відібраних варіантів фітозасобу ПБ, що відображають суть запропонованого способу, наведені нижче в таблиці. Із її даних видно, що отримані екстракти володіють вираженою інтерферон-індукуючою активністю, які рівнозначні за інтенсивністю дії вищезгаданому прототипу. Так, встановлено, що ліофілізати ПБ-1, ПБ-2 і ПБ-3 в дозі 200мг/кг індукують у мишей інтерферон в титрах 320-640од/мл з піком активності через 24год після введення та в титрах 20-80од/мл - через 48год. В цих же умовах експерименту аміксин викликав подібне за динамікою інтерфероутворення в кількості - 640од/мл і поступався щодо концентрації циркулюючого інтерферону на третю добу після введення. Помітну стимуляцію інтерферогенезу (40-80од/мл) реєстрували і при застосуванні вказаних варіантів ПБ в дозі 100мг/кг, що підтверджує їх виражену здатність індукувати інтерферон.

Наведені результати вказують на високу інтерфероніндукуючу активність одержаних із кореневих перстачу білого екстрактів, які за інтенсивністю стимуляції інтерферонові системи рівнозначні активності відомого комерційного індуктора інтерферону аміксину.

Таблиця

Порівняльна оцінка інтерфероніндукуючої активності відібраних рослинних екстрактів ПБ і аміксину

Препарати	Доза в мг/кг	Титри інтерферону в од/мл в крові мишей через:			
		5год	24год	48год	72год
ПБ-1	200, д/о	10	320	20	<10
	100, д/о	<10	20-40	<10	<10
ПБ-2	200, д/о	10	320-640	20-40	<10
	100, д/о	<10	40	<10	<10
ПБ-3	200, д/о	10-20	640	40-80	<10
	100, д/о	<10	40-80	10	<10
Аміксин	200, п/о	10	640	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, рівнозначною дії відомого комерційного препарату аміксіну. 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. 332.

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

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.