



УКРАЇНА

(19) UA (11) 89924 (13) C2

(51) МПК (2009)

A61K 36/537 (2006.01)

A61K 36/61 (2006.01)

A61P 31/00

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

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З АНТИМІКРОБНОЮ АКТИВНІСТЮ З ЦИНЕОЛОВМІСНОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

1

(21) а200903856

(22) 21.04.2009

(24) 10.03.2010

(46) 10.03.2010, Бюл.№ 5, 2010 р.

(72) КОШОВИЙ ОЛЕГ МИКОЛАЙОВИЧ, ПЕРЕДЕРІЙ ЄВГЕНІЙ ОЛЕКСІЙОВИЧ, КУХТЕНКО ОЛЕКСАНДР СЕРГІЙОВИЧ, ДМИТРІЄВСЬКИЙ ДМИТРО ІВАНОВИЧ, ГУДЗЕНКО ОЛЕКСАНДР ПАВЛОВИЧ, БОНДАР СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ, КОВАЛЬОВА АЛЛА МИХАЙЛІВНА, КОМІСАРЕНКО АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

(73) КОМІСАРЕНКО АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

(56) UA 60864 A, 15.10.2003

UA 79383 C2, 11.06.2007

RU 2 032 414 C1, 10.04.1995

JP 56008668 A, 29.01.1981

JP 56020597 A, 26.02.1981

2

JP 9040571 A, 10.02.1997

JP 62029530 A, 07.02.1987

(57) Спосіб одержання засобу з антимікробною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини 96 % спиртом етиловим, фільтрацію, упарювання, очищення та сушіння, який відрізняється тим, що як рослинну сировину використовують листя шавлії лікарської, листя евкаліпту, яке в складі ефірної олії містить не менше 20 % цинеолу, та іншу цинеоловмісну сировину, екстракцію проводять або 96 % спиртом етиловим, або етилацетатом при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:3-1:20, очищення проводять шляхом розчинення в 3-кратній кількості гексану або бензин-калоші та додавання 4 % розчину сульфату міді або цинку.

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до одержання з листя шавлії лікарської, евкаліпту або іншої цинеоловмісної рослинної сировини біологічно активних засобів рослинного походження з антимікробною активністю.

Відомий спосіб одержання хлорофіліпту прийнятий за прототип [1]. Зазначений спосіб полягає у екстракції листя евкаліпту прутувидного 96% спиртом в співвідношенні 1:12, упарюванні екстракту до 1/20 частини первинного об'єму, розведенні залишку, що утворився, у 3-х кратною кількістю води, очистці розчином сірчаної кислоти сірки у співвідношенні 9:1, екстрагуванні цільового продукту бензолом в співвідношенні 3:5, промиванні отриманого бензольного витягу промивають рівною кількістю води, упарюванні під вакуумом, обробці залишку 96% спиртом в співвідношенні 1:2 та вишуванні.

Недоліками способу за прототипом можна вважати використання для екстракції тільки 96% спирту та імпоротної сировини - листя евкаліпту, очистку з використанням токсичного розчинника бензола, крім того, додаткового використання 96%

спирту для очистки, що ускладнює, здорожчує та робить більш небезпечним процес отримання екстракту.

Завданням винаходу є створення способу одержання засобу рослинного походження з антимікробною активністю, який передбачає спиртову або етилацетатну екстракцію листя шавлії лікарської, евкаліпту або іншої цинеоловмісної сировини та подальшу очистку отриманого екстракту, що дозволить менше використовувати імпорتنу сировину - листя евкаліпту, зробити технологію більш безпечною та підвищити ефективність терапії інфекційних захворювань.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що спосіб одержання засобу з антимікробною активністю включає екстракцію рослинної сировини 96% спиртом або етилацетатом, фільтрацію, упарювання, очищення та сушку. Винаходом передбачено, що як рослинну сировину використовують листя шавлії лікарської, евкаліпту або іншої цинеоловмісної сировини, екстракцію проводять при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:3 - 1:20, фільтрацію та упарювання одержаного рідко-

(13) C2

(11) 89924

(19) UA

го екстракту до 1/20 - 1/22 попереднього об'єму, очищення 4% розчином міді або цинку сульфату, вилучення цільового продукту гексаном або бензин-калошею, упарювання та висушування.

Експериментальним шляхом встановлено, що ефективним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини до екстрагенту як 1:3 - 1:20. При цьому, якщо співвідношення менше 1:3, не забезпечується достатня екстракція БАР, що приводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Навпаки, якщо співвідношення більше 1:20, це веде до ускладнення та подовження технологічного процесу, час упарювання та енерговитрати значно зростають. Оптимальне співвідношення 1:3 - 1:12 тому, що забезпечується достатня екстракція БАР, час упарювання мінімальний та дозволяє отримувати екстракт на стандартному обладнанні. При цьому з сировини екстрагують хлорофіли, терпеноїди, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти та інші фенольні сполуки.

Згідно з заявленим способом упарювання проводять до 1/20 - 1/22 первинного об'єму. При більшому упарюванні залишок має більшу в'язкість та зменшується його текучість, що ускладнює роботу з екстрактом та збільшує його втрати у процесі виробництва. При меншому упарюванні значно збільшується витрата реагентів та розчинників в процесі очистки.

Очистку екстракту в процесі здійснення заявленого способу проводять шляхом розчинення зконцентрованого екстракту в 3-х кратній кількості гексану або бензин-калоші, при додаванні рівної кількості 4% розчину міді або цинку сульфату та перемішуванні протягом 2-12 годин до рН 2-3 водного шару. Далі гексановий шар промивають рівною кількістю води та сушать, наприклад, в вакуум-циркуляторному апараті при зниженому тиску, до густого екстракту та при необхідності доводять спиртом до рідкого. Після очистки екстракт містить терпенові сполуки та порфірини.

Заявлений спосіб забезпечує отримання екстракту цинеоловмісної рослинної сировини у вигляді густої, в'язкої, темно-зеленої рідини.

Заявлений спосіб здійснюють шляхом екстракції подрібненого листа шавлії лікарської, евкаліпту або іншої цинеоловмісної сировини лікарської 96% спиртом етиловим або етилацетатом при співвідношенні сировина:екстрагент - 1:3 - 1:20, фільтрації отриманого екстракту та упарюванні до 1/20 - 1/22 попереднього об'єму, отриманий кубовий залишок розчиняють у 3-х кратній кількості гексану або бензин-калоші, для очистки додають рівну кількість 4% розчину міді або цинку сульфату, промивають гексановий шар рівною кількістю води та упарюють під вакуумом до густого екстракту. Екстракт є густою, в'язкою рідиною темно-зеленого кольору, зі специфічним запахом. Вихід готового продукту 8-12%.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1. 1кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0мм сухого листа шавлії лікарської екстрагували 3л 96% етилового спирту протягом доби, екстракцію проводили тричі. Одержані екстракти об'єднували (7,9л), упарювали при температурі 85°C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690мм рт.ст. до об'єму залишку 0,4л. Кубовий залишок розчиняли в 1,2 літрах гексану, додавали 1,6л 4% розчину сульфату цинку та перемішували протягом 6 годин до рН 2,6 водного шару. Далі гексановий шар промивали рівною кількістю води очищеної (1,2л), водний шар відокремлювали, а гексановий шар упарювали під вакуумом. Вихід готового продукту - 11,3%.

Приклад 2. Вивчення антибактеріальної активності екстрактів, отриманих заявленим способом проводили методом дифузії в агар та методом послідовних розведень у рідкому живильному середовищі [2]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препарату використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* 9027 ATCC, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 885/653 ATCC (табл.).

Таблиця

Результати вивчення антибактеріальної активності 1 % спиртових розчинів екстрактів листа евкаліпту (1) та шавлії лікарської (2), отриманих заявленим способом

№ з/п	Мікроорганізм	Екстракти					
		Очищ. CuSO ₄		Очищ. ZnSO ₄		Очищ. FeSO ₄	
		1	2	1	2	1	2
1.	<i>S. aureus</i> 25923	17*	18	22	20	15	12
2.	<i>S. aureus</i> 6538	19	19	22	21	15	13
3.	<i>E. coli</i> 25922	20	12	21	15	12	12
4.	<i>Proteus vulgaris</i> 4636	14	10	15	14	11	10
5.	<i>B. subtilis</i> 6633	21	19	22	22	16	17
6.	<i>P. aeruginosa</i> 27853	16	15	20	16	12	12
7.	<i>P. aeruginosa</i> 9027	17	16	21	16	12	14
8.	<i>S. pyogenes</i> 2432	21	19	23	20	15	15
9.	<i>Candida albicans</i> 885/653	20	18	21	20	15	14

Примітка. * - діаметр зони затримки росту мікроорганізму, мм.

Встановлено, що екстракти виявляють активність по відношенню до штамів *Staphylococcus aureus*, *Basillus subtilis*, *Candida albicans* та *Streptococcus pyogenes*, тобто екстракт проявляє антимікробну активність по відношенню до грам-позитивних та грам-негативних бактерій та грибів. Найбільшу ефективність екстракт має у вигляді 1% спиртового розчину. Крім того встановлено, що екстракти, які очищували при використанні цинку сульфату виявляли більш сильну антимікробну активність до дослідних мікроорганізмів.

Таким чином заявлено новий спосіб одержання засобів з антимікробною активністю, який відзначається рядом переваг:

1) простота виконання та можливість здійснення на стандартному обладнанні в промислових умовах України;

2) використання як сировини листя шавлії лікарської, яку можна культивувати в кліматичних умовах України та європейської частини СНД, що дозволить використовувати вітчизняну сировину;

3) використання як екстрагент спирт етилового або етилацетат, тобто спосіб доступний та має гнучку технологію;

4) у процесі очистки відмовились від використання токсичного розчинника бензола та проведено його заміну на гексан або бензин-калошу;

5) доведено можливість та доцільність заміни міді сульфату на цинку сульфат, що робить технологію більш безпечною та підвищує біологічну активність екстракту;

6) при промисловому використанні заявленого способу зменшується використання спирту етилового та, при необхідності, спосіб дозволяє відмовитись від цього розчинника, що дозволить фармацевтичним підприємствам підвищити економічну ефективність виробництва;

7) перспективність використання одержаних екстракту як лікарської субстанції для одержання різних лікарських форм;

8) тривалий термін зберігання засобу, одержаного заявленим способом.

Джерела інформації:

1. Пат. № 5242 Україна, МПК А61К35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту / В.Л. Надтока, Н.Г. Божко, А.О. Гришко. - № 2753048/SU; Заявл. 25.04.79; Опубл. 28.12.94, Бюл. № 7-1.

2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод рекомендацій. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Здоров'я, 2002. - С.79-95, 292-306.