



УКРАЇНА

(19) UA (11) 89926 (13) C2
(51) МПК (2009)
A61K 36/61 (2006.01)
A61P 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З АНТИМІКРОБНОЮ АКТИВНІСТЮ З ЛИСТЯ ЕВКАЛІПТУ

1

(21) а200903866

(22) 21.04.2009

(24) 10.03.2010

(46) 10.03.2010, Бюл.№ 5, 2010 р.

(72) КОШОВИЙ ОЛЕГ МИКОЛАЙОВИЧ, КУХТЕНКО ОЛЕКСАНДР СЕРГІЙОВИЧ, КОВАЛЬОВА АЛЛА МИХАЙЛІВНА, КОМІСАРЕНКО АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, ГЛАДУХ ЄВГЕНІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

(73) КОМІСАРЕНКО АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

(56) UA 79383 C2, 11.06.2007

RU 0 032 414 C1, 10.04.1995

JP 56020597 A, 26.02.1981

JP 2000060437 A, 29.02.2000

JP 8059491 A, 05.03.1996

2

(57) Спосіб одержання засобу з антимікробною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини - листя евкаліпту прутovidного - 96 % спиртом етиловим, фільтрацію, упарювання, очищення та сушіння, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують листя евкаліпту, яке в складі ефірної олії містить не менше 20 % цинеолу, 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.

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до одержання з листя евкаліпту біологічно активних засобів рослинного походження з антимікробною активністю.

Відомий спосіб одержання хлорофіліпту прийнятий за прототип [1]. Зазначений спосіб полягає у екстракції листя евкаліпту прутovidного 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 сірчанокислої сірки у співвідношенні 9:1, екстрагуванні цільового продукту бензолом в співвідношенні 3:5, промиванні отриманого бензольного витяг 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, очистку виконують з використання токсичного розчинника бензола, крім того для очистки додатково використовують 96% спирт, 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 евкаліпту та

подальшу очистку отриманого екстракту, що дозволить зменшити використання спирту етилового, зробити процес очистки більш безпечним, за рахунок заміни токсичного розчинника, 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 упарювання. Винаходом передбачено, що в якості рослинної сировини використовують листя евкаліпту, яке в складі ефірної олії містить не менше 20% цинеолу, екстракцію проводять при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:3-1:20, фільтрацію та упарювання одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищення 4% розчином міді сульфату, вилучення цільового продукту гексаном або бензин-калошею, упарювання.

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 проце-

(13) C2

(11) 89926

(19) UA

су, збільшення використання розчинника, 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, терпени, 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 в процесі виробництва. При меншому упарюванні значно збільшується витрата реагентів та розчинників в процесі очистки.

Очистку екстракту в процесі здійснення заявленого способу проводять шляхом розчинення сконцентрованого екстракту в 3-х кратній кількості гексану або бензин-калоші, при додаванні рівної кількості 4% розчину міді сульфату та перемішуванні протягом 2-12 годин доки рН водного шару не досягне 2-4. 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 порфіні.

Заявлений спосіб забезпечує отримання екстракту листя евкаліпту у вигляді густої, в'язкої, темно-зеленої рідини.

Заявлений спосіб здійснюють шляхом екстракції подрібненого листя евкаліпту 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 сульфату міді, промивають гексановий шар рівною кількістю води та упарюють під вакуумом до густого екстракту. Екстракт являє собою густу, в'язку рідину 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 листя евкаліпту екстрагували 3л 96% етилового спирту протягом доби, екстракцію проводили тричі. Одержані екстракти об'єднували (7,6л), упарювали при температурі 85°C під вакуумом у вакуум-циркуляторному 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 міді та перемішували протягом 5 годин до тих пір, поки рН водного шару досяг 2,9.

Далі гексановий шар промивали рівною кількістю води очищеної (1,2л), водний шар відокремлювали, а гексановий шар упарювали під вакуумом. Вихід готового продукту - 10,5%.

Приклад 2. Вивчення антибактеріальної активності екстракту, отриманого 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. Встановлено, що екстракт виявляє активність по відношенню до штамів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus subtilis*, *Candida albicans* та *Streptococcus pyogenes*, тобто екстракт виявляє антимікробну активність по відношенню до грам-позитивних та грам-негативних бактерій та грибів. Найбільшу активність екстракт виявляє у вигляді 1% спиртового розчину.

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

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

2) використання в якості екстрагента як спирту етилового, так і етилацетату, тобто спосіб доступний та має гнучку технологію;

3) в процесі очистки відмовились від використання токсичного розчинника бензола та проведена його заміна на гексан або бензин-калошу, що робить технологію більш безпечною;

4) 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;

5) перспективність використання одержаного екстракту як лікарської субстанції для одержання різних лікарських форм;

6) 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. Грижко. - №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 ОБ. Стефанова. - К.: Здоров'я, 2002. - С. 79-95, 292-306.

