



УКРАЇНА

(19) UA (11) 14493 (13) U  
(51) МПК (2006)  
A61K 36/61 (2006.01)  
A61K 127/00 (2006.01)  
A61K 9/14

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА АНАБОЛІЧНОЮ АКТИВНІСТЮ

1

(21) u200511277  
(22) 28.11.2005  
(24) 15.05.2006  
(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.  
(72) Кошовий Олег Миколайович, Гомон Ольга Миколаївна, Мудрик Ірина Михайлівна, Малоштан Людмила Миколаївна, Білостоцька Людмила Ігорівна, Комісаренко Андрій Миколайович, Чайка Леонід Олександрович, Ковальова Алла Михайлівна, Комісаренко Сергій Миколайович, Ковальчук Наталя Іванівна  
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
(57) Спосіб одержання засобу з протизапальною та анаболічною активністю, що включає екстрак-

2

цію рослинної сировини гарячою водою, фільтрацію, упарювання, очищення та сушіння, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують листя евкаліпту або його шрот після виділення гідрофобної фракції, екстракцію проводять при співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:3-1:9 при температурі 90-100°C протягом 1,5-2 годин з подальшим настоюванням протягом 11-12 годин, фільтрацією та упарюванням одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищенням шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації.

Корисна модель відноситься до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до одержання біологічно активних засобів рослинного походження з протизапальною та анаболічною активністю з листя та шроту евкаліпту після виділення гідрофобної фракції.

Відомий спосіб одержання суми полісахаридів з протизапальною активністю з василька синього або з його шроту після виділення суми флавоноїдів [1]. Спосіб здійснюють шляхом екстракції сировини гарячою водою (95°C) при співвідношенні сировини : екстрагент 1:15-20 протягом 40-50 хвилин. На завершальній стадії екстракції рідкий екстракт відокремлюють від твердої фази (сировини) шляхом центрифугування. Одержаний екстракт згущують під вакуумом, упарюють, осаджують 96% спиртом етиловим та фільтрують на центрифугі. Відокремлений продукт промивають 96% спиртом етиловим і сушать.

До недоліків відомого способу можна віднести його багатостадійність, додаткові витрати спирту етилового та моноспрямованість фармакологічної дії одержаного продукту.

Відомий також спосіб одержання засобу з анаболічною активністю [2], прийнятий за прототип.

Зазначений спосіб полягає у екстракції суцвіть деревію дистильованою водою у співвідношенні 1:10 послідовно 4 рази при 80°C, кожен раз протягом 35 хвилин. Одержані екстракти об'єднують, концентрують до половини об'єму, проводять очищення на сорбенті з суміші поліаміду і активованого вугілля у співвідношенні 1:0,2 та піддають ліофілізованій сушці протягом 20-26 годин у сублімаційному апараті зі зниженням тиску від атмосферного до  $5 \cdot 10^{-1}$ – $5 \cdot 10^{-2}$  мм рт.ст. і відповідно зниженням температури від -35 до -50°C через 1-1,5 години. Через 16 годин після початку сушіння температуру поступово підвищують до +40°C.

Недоліками способу за прототипом можна вважати необхідність виготовлення спеціально призначеного для нього нестандартного сорбенту, а також використання ліофілізованого сушіння при значній зміні тиску та перепаді температур у 95°C. При цьому одержаний продукт характеризується односпрямованістю фармакологічної дії.

Завданням корисної моделі є створення способу одержання засобу рослинного походження з протизапальною та анаболічною активністю, який передбачає водну екстракцію як листя евкаліпту, так і його шроту після виділення гідрофобної фрак-

(19) UA (11) 14493 (13) U

кції, наприклад, при промисловому одержанні лікарського засобу хлорофіліпту, при цьому готовий продукт має розширений спектр фармакологічної дії, а використання заявленого способу для переробки шроту листя евкаліпту забезпечить безвідходний процес одержання хлорофіліпту і додатково нового засобу з протизапальною та анаболічною активністю, що позитивно вплине на собівартість одержання обох засобів і дозволить вичерпно використати імпорту сировину.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з протизапальною та анаболічною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини гарячою водою, фільтрацію, упарювання очищення та сушіння, корисною моделлю передбачено, що в якості рослинної сировини використовують лист евкаліпту або його шрот після виділення гідрофобної фракції, екстракцію проводять при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:3-1:9 при температурі 90-100°C протягом 1,5-2 годин з подальшим настоюванням протягом 11-12 годин, фільтрацією та упарюванням одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищенням шляхом відстоювання у холодильнику та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації.

Листя евкаліпту є лікарською рослинною сировиною з багатим вмістом біологічно активних речовин, яку традиційно використовують при одержанні хлорофіліпту. При цьому з листя евкаліпту 96% спиртом етиловим в співвідношенні сировини до екстрагенту 1:12 екстрагується гідрофобна фракція, з якої відомим способом отримують хлорофіліпт [3]. Шрот, одержаний після виділення гідрофобної фракції, містить водорозчинний комплекс біологічно активних речовин (БАР). Авторами встановлено, що переробка такого шроту у відповідності з заявленим способом, дозволяє одержати засіб з протизапальною та анаболічною активністю.

Експериментальним шляхом встановлено, що ефективним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини до екстрагенту як 1:3-1:9. 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 1:9, це веде до ускладнення та подовження технологічного процесу, час упарювання та енерговитрати значно зростають. Оптимальне співвідношення 1:3-1:4 тому, що забезпечується достатня екстракція БАР, час упарювання мінімальний та дозволяє отримувати екстракт на стандартному обладнанні без додаткової переавантаження первинної сировини.

Згідно з заявленим способом екстракцію проводять при температурі 90-100°C протягом 1,5-2 годин з подальшим настоюванням протягом 11-12 годин. Температура 90-100°C є оптимальною, тому що забезпечує максимальну екстракцію водорозчинних сполук. Настоювання доцільно проводити протягом 11-12 годин, що забезпечує максимальну екстракцію та співпадає з часовими рамками процесу виробництва хлорофіліпту, що дозволяє отримувати екстракт на тому ж стандар-

тному обладнанні паралельно з виробництвом хлорофіліпту.

Очистку екстракту в процесі здійснення заявленого способу проводять шляхом відстоювання в холодильнику, що забезпечує осадження механічних включень та гідрофобних речовин. Відстоювання в холодильнику для також запобігає прокисанню водного екстракту.

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 подовжується процес сушіння, наприклад в вакуум-розпилювальному апараті, та збільшуються енерговитрати.

Одержаний після упарювання екстракт стерилізують будь-яким зручним у промислових умовах способом, наприклад в автоклаві при 120°C протягом 3-4 годин. Стерилізація забезпечує усунення мікробної контамінації та спор мікроорганізмів, що підвищує якість продукту, безпечність при його застосуванні та збільшує строк збереження.

Стерилізований екстракт сушать, наприклад, в вакуум-розпилювальному апараті при температурі на вході 160°C та на виході 80-90°C, до сухого стану.

Заявлений спосіб забезпечує отримання екстракту листя евкаліпту у вигляді мілкового порошку, зручного для подальшого використання в виробництві та збереження.

Заявлений спосіб здійснюють шляхом екстракції подрібненого листя евкаліпту або його шроту після виділення гідрофобної фракції водою очищеною при температурі 90-100°C протягом 2 годин та подальшим настоюванням протягом 11-12 годин при співвідношенні сировини: екстрагент 1:3-1:9, фільтрацію отриманого екстракту та упарювання до 1/20-1/22 попереднього об'єму з подальшим відстоюванням у холодильнику. Надосадову рідину зливають та стерилізують. Екстракт являє собою прозору рідину темно-коричневого кольору, зі специфічним запахом. Далі водний розчин упарюють до одержання сухого продукту. Вихід готового продукту 8-12%. Одержаний сухий екстракт - гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом. Колір залежить від якості сировини та умов сушіння. Отриманий готовий екстракт містить не менше ніж: 20% поліфенольних сполук в перерахунку на галову кислоту; 3,1% гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту; 3,7% флавоноїдних сполук в перерахунку на рутин; 11% полісахаридів в перерахунку на глюкозу; 0,15% амінокислот в перерахунку на лейцин.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. 5кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0мм сухого листя евкаліпту екстрагували 15л води очищеної при температурі 95°C протягом 2 годин та подальшим настоюванням протягом 11 годин, екстракцію проводили тричі. Одержані екстракти об'єднували (43л), упарювали при температурі 85°C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрізненні 690мм рт. ст. до об'єму водного залишку

2л. Кубовий залишок являв собою густу прозору темно-коричневу рідину, яку залишали для відстоювання на 2 доби в холодильнику. Відокремлену надосадову рідину стерилізували та сушили у розпилювальній сушильці з температурою теплоносія на вході 160°C і на виході - 85°C до сухого екстракту листа евкаліпту. Вихід готового продукту - 12%.

Приклад 2. 70кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0мм сухого листа евкаліпту залили 210л 96% етилового спирту, 4-х кратною екстракції одержали відомим способом 820л спиртового екстракту евкаліпту, з якого в подальшому отримали густий екстракт хлорофілліту [3]. Після регенерації спирту з сировини, одержаний шрот листа евкаліпту екстрагували 210л води очищеної при температурі 95°C протягом 2 годин та подальшим настоюванням протягом 11 годин. Екстракцію проводили двічі. Одержані екстракти об'єднували (405л), упарювали при температурі 85°C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690мм рт. ст. до об'єму водного залишку 20л. Кубовий залишок являв собою густу прозору темно-коричневу рідину, яку залишили для відстоювання на 4 доби в холодильнику. Відокремлену надосадову рідину стерилі-

зували та сушили у розпилювальній сушильці з температурою теплоносія на вході 160°C і на виході - 85°C до сухого екстракту. Вихід готового продукту - 9%.

Приклад 3. Протизапальну активність засобу у формі сухого екстракту евкаліпту, одержаного за заявленим способом (далі - екстракт евкаліпту), вивчали у дослідях на білих мишах масою 17-22г на моделі формалінового набряку. Препаратом порівняння обрали вольтарен. Дослідні тварини поділили на три групи: контрольна, група, яку лікували новим екстрактом евкаліпту та лікована препаратом порівняння.

Ступінь протизапальної активності нового засобу оцінювали за антиексудативним ефектом.

Для відтворення гострого асептичного ексудативного запалення використовували в якості флогену 2% розчин формаліну, який вводили субплантарно в кількості 0,05мл через 1 годину після перорального введення досліджуваного екстракту евкаліпту, препарату порівняння вольтарену і у контрольній групі - води. Активність досліджуваних засобів вивчали за їх здатністю зменшувати розвиток набряку в порівнянні з контролем. Результати проведеного дослідю наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Оцінка протизапальної активності нового екстракту евкаліпту за ступенем антиексудативного ефекту

Препарат	Доза мг/кг	Середнє значення величини набряку, г	Антиексудативний ефект, %
Екстракт евкаліпту	20	0,378±0,031	61,51
Вольтарен	2,3	0,358±0,061	63,54
Контроль	0	0,982±0,111	0

Отримані на моделі формалінового набряку у мишей результати свідчать про виражену протизапальну активність нового екстракту евкаліпту, одержаного за заявленим способом. Максимальний антиексудативний ефект нового екстракту евкаліпту 61,51% спостерігався у дозі 20мг/кг. Ступінь протизапальної активності досліджуваного засобу та препарату порівняння вольтарену у вивчених дозах майже однакова.

Приклад 4. З метою дослідження специфічної фармакологічної активності екстракту, одержаного за заявленим способом, вивчали його анаболічну активність за ступенем впливу на камбаловидний м'яз правої задньої кінцівки дослідних тварин в умовах перерозподілу фізичного навантаження на цю кінцівку після операції тенотомії на лівій задній кінцівці.

Дослідження проведені на пацюках-самцях з вихідною масою 190-222г, які були розділені на 4 групи: контроль, патологія (тенотомія), патологія + лікування екстрактом евкаліпту, патологія + лікування препаратом порівняння. Як препарат порівняння використали флаванабол - анаболічний засіб рослинного походження з кореня вовчуга польового (*Ononis arvensis*) [4].

Порівнювані препарати вводили внутрішньоварово щодня протягом 12 днів у вигляді водного розчину в дозі 500мг/кг з першого дня після операції.

Дослід показав, що при лікуванні екстрактом евкаліпту спостерігалася стійка тенденція ( $0,05 < P < 0,1$ ) до збільшення маси та масового коефіцієнта камбаловидного м'яза в порівнянні з контрольною групою та групою нелікованих оперованих тварин, що свідчить про прояв анаболічної активності екстракту евкаліпту. Флаванабол не впливає на ці показники. Встановлено, що екстракт евкаліпту не викликає гіпертрофії або гіпотрофії печінки й серця й не змінює масовий коефіцієнт цих органів.

Приклад 5. Нешкідливість сухого екстракту евкаліпту, одержаного за заявленим способом, оцінювали за рівнем гострої токсичності після одноратного внутрішньоварового введення в дозах 5 і 10г/кг здоровим білим нелінійним мишам. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 діб. Як препарат порівняння використовували відомий нестероїдний анаболічний засіб Калію оротат [5].

Встановлено, що введення екстракту евкаліпту в максимальних дозах (10г/кг) не викликає клінічне обумовлених симптомів інтоксикації й не приводить до летальних випадків, тоді як Калію оротат у максимальній дозі (6,67г/кг) викликає 16,7% - у смертність. Таким чином, екстракт евкаліпту характеризується високим рівнем нешкідливості й по класифікації токсичності належить до V класу токсичності - практично нетоксичним лікарським речовинам [6].

Таким чином заявлено новий спосіб одержання засобу з протизапальною та анаболічною активністю, який відзначається рядом переваг:

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

2) використання в якості екстрагента води, тобто спосіб доступний, екологічно безпечний, дешевий, такий що не вимагає роботи з отруйними, вогнебезпечними й шкідливими для здоров'я людини реактивами;

3) використання в якості сировини як листя евкаліпту так і його шроту після виділення гідрофобної фракції, що дозволяє комплексно переробляти дану рослинну сировину, більш раціонально використати природні ресурси, підвищити рентабельність виробництва та зменшити його негативний вплив на навколишнє середовище;

4) наявність вираженої протизапальної та анаболічної активності екстракту евкаліпту, одержаного за заявленим способом;

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

6) нетоксичність екстракту, одержаного за заявленим способом, дозволяє використовувати його довгостроково, при лікуванні вагітних, маленьких дітей і людей похилого віку за рекомендацією лікаря;

7) тривалий термін зберігання засобу, одержаного заявленим способом.

Джерела інформації

1. Пат. №2063236 РФ МКИ<sup>6</sup> А61К35/76. Способ получения суммы полисахаридов, обладающей противовоспалительной активностью / В.Н.Бубенчикова, В.И. Литвиненко, Т.П. Попова, А.С. Аммосов. -№ 4951309/14; Заявл. 27.06.91; Опубл. 10.07.96, Бюл. № 19.

2. Пат. №2026076 РФ МКИ<sup>6</sup> А61К35/78. Способ получения средства, обладающего анаболической активностью / А.В. Мазулин, Н.А. Калошина, В.И. Мозуль, Г.Н. Липкан. - № 4914474/14; Заявл. 25.02.91; Опубл. 10.01.95, Бюл. № 1.

3. 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.

4. Лекарственные препараты Украины. - Х. «Прапор», издательство УкрФА. - Т. 3.-1999. - С. 52-53.

5. Компендіум 1999/2000 - лікарські препарати / Під ред. В.Н. Коваленко, А.П. Вікторова. - К.: «МОРЮН», 1999. - С. 291.

6. Експериментальне вивчення токсичної дії потенціальних лікарських засобів. Методичні рекомендації / Коваленко В.М., Стефанов О.В., Максимов Ю.М., Трахтенберг І.М. // В сб.: Доклінічні дослідження лікарських засобів. Ред. О.В. Стефанов. - К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. -С. 74-97.