



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **39656** (13) **U**
(51) МПК (2009)
A61K 36/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ БІОСТИМУЛЮЮЧОГО ЗАСОБУ**

1

(21) u200810379

(22) 13.08.2008

(24) 10.03.2009

(46) 10.03.2009, Бюл.№ 5, 2009 р.

(72) ТКАЧЕНКО АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ, UA, ГАЛЬ-
ЧАНСЬКИЙ ОЛЕКСІЙ ВІКТОРОВИЧ, UA(73) ТКАЧЕНКО АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ, UA, ГАЛЬ-
ЧАНСЬКИЙ ОЛЕКСІЙ ВІКТОРОВИЧ, UA(57) Спосіб виготовлення біостимулюючого засобу з листів дуба, зібраних по закінченні фази вегетації, що включає екстракцію їх водою при критичних параметрах тиску і температури на лінії насичення, який **відрізняється** тим, що до початку екстра-

2

гування із закритою кришкою герметичної посудини для екстрагування відкачують повітря, нагрівають до температури насичення першої фракції, після чого проводять охолодження розчину до температури конденсації першої фракції шляхом охолодження кришки проточною водою, відбирають першу фракцію і досушують насуху шляхом вакуумно-конденсаційної сушки при температурі конденсації, після відбору першої фракції процес повторюють, відповідно підвищуючи температури насичення, конденсації і сушки для кожної наступної фракції.

Корисна модель стосується фармакології біостимулюючих засобів рослинного походження і може бути використаним для нормалізації обміну речовин, опірності організму шляхом активізації неспеціалізованої та специфічної систем організму.

Заявлений спосіб пропонується використовувати у виробництві медичних і ветеринарних біостимулюючих засобів, застосовуваних для виводу радіонуклідів, токсичних речовин, підвищення імунотропного ефекту, у якості протизапальних засобів при лікуванні захворювань серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, органів дихання, стоматологічних, гінекологічних, урологічних, інфекційних, шкірних захворювань, дитячих хвороб, в геронтології, для збереження продуктів генетичної інформації.

Відомий біостимулюючий засіб, який отримують способом екстракції з листя дуба, зібраних в процесі вегетації по патенту України №11003 від 10.02.93р., М.кл. А61К35/78. Згідно з відомим способом, зібране листя екстрагують водою при співвідношенні масовому 1:13:17 протягом 0,3-0,4 години в умовах, коли добуток величини тиску на тривалість екстракції складає 14,0-15,5кгс/год і наступного випарювання екстракту до сухого залишку.

Недоліком цього способу є низька концентрація в готовому продукті таніну і таніноподібних ре-

човин, що володіють радіопротекторною і антиокисною дією.

Відомий спосіб виготовлення біостимулюючого засобу, з листів дуба, зібраних по закінченні фази вегетації, що полягає в екстракції їх водою в співвідношенні 1:13-17 і упарюванні екстракту насуху [патент України №75870 від 28.02.2002р., М.кл. А61К35/78].

Екстракцію здійснюють шляхом досягнення критичних параметрів пари на лінії насичення протягом 2-3 хвилин.

Значення критичного тиску знаходяться в межах від 220 до 230кгс/см², значення критичної температури знаходиться в межах від 640 до 670К, а критичну масу визначають по формулі:

$$M_{кр} \geq p_n \cdot V, \text{ де}$$

p_n - щільність водяних пар при критичних параметрах тиску і температури (кг/м³);

V - обсяг автоклава (м³).

Відомий спосіб є найбільш близьким запропонованому і вибраний як прототип.

Завдяки здійсненню зазначеного способу підвищується концентрація таніну і таніноподібних речовин у готовому продукті, що є основними складовими біостимулюючого засобу.

Готовий продукт представляє собою суміш всіх фракцій, що входять в екстракт.

Недоліком найближчого аналога є недостатня ефективність готового продукту для лікування різних захворювань внаслідок руйнування деяких

(13) **U**(11) **39656**(19) **UA**

діючих речовин, що входять в нього під дією підвищених температур без попереднього розподілу на фракції, наприклад, при температурі екстракції вище 200°C руйнуються ефіри, вітаміни, органічні кислоти терпеноїди, альдегіди. Зруйновані фракції випадають в важкорозчинний осад і не засвоюються організмом, тим самим знижуючи ефективність дії фітопродукту.

В основу корисної моделі поставлено задачу шляхом зміни параметрів екстракції і додаткових операцій забезпечити одержання засобу з більш високими біостимулюючим і радіопротекторним ефектами.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі виготовлення біостимулюючого засобу, з листів дуба, зібраних по закінченні фази вегетації шляхом екстракції їх водою при критичних параметрах тиску і температури на лінії насичення, згідно з корисною моделлю, до початку екстрагування із закритою кришкою герметичної посудини для екстрагування відкачують повітря, нагрівають до температури насичення першої фракції, після чого проводять охолодження розчину до температури конденсації першої фракції шляхом охолодження кришки проточною водою, відбирають першу фракцію і досушують насухо шляхом вакуумно-конденсаційної сушки при температурі конденсації, після відбору першої фракції процес повторюють відповідно підвищуючи температури насичення, конденсації і сушки для кожної наступної фракції.

Критеріями розподілу продукту на окремі фракції, що входять в розчин є температури їх конденсації, наприклад, для одержання ефірів та вітамінів - не вище 60°C, для одержання глікозидів - не вище 100°C, для одержання альдегідів - не вище 150°C, для одержання терпеноїдів - не вище 200°C, для одержання фенолів - не вище, 250°C.

При охолодженні посудини з боку кришки проходить інтенсивний тепло- та масоперенос, при цьому за рахунок активного перемішування концентрату в посудині при підвищеній ефективній теплопровідності розчину, що в сотні разів перевищує теплопровідність міді та срібла, а також більш швидкого випарування розчину і його конденсації у вигляді крапель на кришці, термодинамічний процес дозволяє підвищити концентрацію танінів, які є активними біостимуляторами.

Завдяки здійсненню зазначеного способу підвищується концентрація і збереження діючих речовин у готовому продукті, що є основними складовими біостимулюючого засобу.

Спосіб виконують таким чином.

До початку екстрагування із герметичної посудини для екстрагування відкачують повітря, листя дуба екстрагують водою при критичних параметрах тиску і температури на лінії насичення. Після закінчення циклу екстрагування розчин нагрівають до температури насичення першої фракції 50-60°C, проводять охолодження розчину до температури конденсації не вище 60°C шляхом охолодження кришки проточною водою. На внутрішній поверхні кришки конденсуються пари потрібної нам першої фракції, наприклад, ефіри та вітаміни. Конденсат відводять і досушують насухо шляхом вакуумно-конденсаційної сушки при температурі від 50°C до 60°C.

Після відбору першої фракції процес повторюють відповідно підвищуючи температури насичення, конденсації і сушки для кожної наступної фракції.

Суть корисної моделі пояснюється наведеними нижче прикладами.

Приклад 1

Порівняльні дослідження прототипу і запропонованої корисної моделі проводили шляхом вивчення їх хімічного складу, токсичності, біологічної активності. Хімічний склад біологічно активних ефірів, глікозидів, агліконів, вітамінів, фенолів визначали методами радіоізотопних досліджень в пробірці, які дозволяють визначити концентрацію біологічно активних речовин і отримати спектри поглинання хімічних елементів, що входять у склад екстракту. Біологічна активність фітозасобів визначалась шляхом дріжджового культивування на середовищі УЕРТ по швидкості колоноутворення мікроорганізмів під впливом різних концентрацій засобів, що тестуються. Кількість мікроорганізмів визначали нефелометричним методом. Токсикологічні дослідження проводились в лабораторно-експериментальних умовах. Результати досліджень приведені в таблицях 1, 2, 3, 4.

Результати токсикологічних досліджень: гостра токсичність внутрішньом'язово - 0, хронічна токсичність внутрішлунково - 0, індекс місцевої подразнюючої дії - 0.

Таблиця 1

Біостимулююча дія прототипу та засобу, що заявляється

Назва досліджу	Оптична густина (абс.од.)		Приріст клітинної маси, %
	Сумарна	Приріст	
Контроль (дріжджі + середовище)	40	-	-
Найближчий аналог			
0,1% розчин	70	6	51,5
0,01% розчин	55	5	45
Пропонує мий засіб			
0,1% розчин	75	7	56,5
0,01% розчин	72	7	50

Таблиця 2

Вплив засобу, який пропонується, на функціональну активність макрофагів

Група тварин	Кількість тварин	Інтенсивність фагоцитозу	Інтенсивність НСТ-тесту
Контрольна	12	15,3±1,1	38,4±2,9
Ті, що отримали фітозасіб	14	17,5±1,2	44,2±3

Таблиця 3

Вплив засобу, що пропонується, на клітинну імунну відповідь

Група тварин	Кількість тварин	Різниця маси піддослідної і контрольної лап (мг)
Контрольна	9	24,6±5,2
Ті, що отримали фітозасіб	10	17,2±2,9
Контроль сенсibiлізації (розрізнявальна фаза антигену)	8	11,7±3,1

Таблиця 4

Чутливість до імуномодуляторів у обстежених осіб

Найменування препарату	Чутливість, %	
	Контроль	Хворі
Лаферон	19,1±0,4	2,8±0,7
Декаріс	9,7±0,2	2,1±0,1
Котячий кіготь	24,7±10,3	26,7±0,7
Джерело	39,3±0,5	41,2±0,8
Ехінацея пурпурна	12,01±0,2	14,1±0,1
Вобензим	1,4±0,3	0,7±0,03
За прототипом	54,2±0,3	68,7±0,8
За корисною моделлю, що пропонується,	58,4±0,3	69,8±0,8

Вивчення імуномодельючих властивостей засобу, що пропонується, проводилось відділом проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології НАНУ.

Оцінюючи результати досліджень, можна засвідчити відсутність лімфотоксичної дії, збільшення інтенсивності гуморальних імунних реакцій організму у порівнянні з прототипом.

Данні досліджень імуномодельючих властивостей засобу, що пропонується, на піддослідній групі хворих онкологічними захворюваннями: саркома шлунка - 7чол., саркома легенів - 4чол., саркома простати - 2чол., саркома щитовидної залози - 1чол., фіброма матки - 2чол., саркома стравоходу - 1чол., саркома придатків матки - 2чол., показані в Таблиці 5.

Таблиця 5

Найменування препарату	ПФ		ФК		НСТ-тест	
	24ч.	72ч.	24ч.	72ч.	24ч.	72ч.
Контроль (фіз.розчин)	48	-	3,4	-	52	53
Фітор 50д	52	55	4,0	4,2	60	63
Фітор 250д	69	78	7,5	8,0	82	84
Засіб, що пропонується 50д	73	81	7,9	8,5	85	87

Отримані при дослідженні дані дозволяють рекомендувати запропонований засіб у якості лікувально-профілактичного засобу при запально-дистрофічних процесах, що супроводжуються алергічними реакціями, а також при застосуванні лікарських препаратів, що пригнічують імунну систему (цитостатики, антибіотики, сульфаніаміди, психотропні засоби та ін.).

Приклад 2

У досліджах на самцях мишей лінії СВА (150шт.) вагою 18-25г досліджували імуномодельючі властивості засобу, що пропонується, а також його протипухлинну дію. Імуномодельючі якості засобу оцінювали по його здатності впливати на інтенсивність розвитку реакцій гуморального та клітинного імунітету. Імунотропні якості засобу оцінювали по його здатності змінювати характер

імунної реакції на тест-антиген для чого використовували еритроцити барана.

Одночасно з визначенням інтенсивності імунних реакцій у тварин оцінювали стан лімфоїдних

органів (тимуса та селезінки) за показниками: вага органу, кількість лімфоїдних клітин та органний індекс. Результати досліджень наведені в таблицях 6, 7.

Таблиця 6

Вплив запропонованого засобу на стан лімфоїдних органів

Група тварин		Тимус		Селезінка		
		Кількість лимфоїдних клітин (10)	Органний індекс	Маса (мг)	Кількість лимфоїдних клітин (10)	Органний індекс
Інтактні		32,1±9,8	238±21	192±24	149±21	721±99
оптимальна доза антигену	контроль	11,6±3,2	191±18	219±1,9	197±2,5	965±73
	отримавші засіб	8,2±0,9	128±19	236±9	232±14	1114±39
Субоптимальна доза антигену	контроль	49±1,9	277±20	136±15	102±10	652±36
	отримавші засіб	45,2±5,4	197±12	160±21	150±15	965±74
оптимальна доза антиген + циклофосфан	контроль	27,9±4,8	152±16	196±18	175±11	812±39
	отримавші засіб	15,4±1,3	118±9	221±15	218±25	1102±64

Таблиця 7

Вплив запропонованого засобу на гуморальну імунну відповідь

Група тварин		Число РОК (на 10 ⁶ спленоцитів)	Число АОК (на 10 ⁶ спленоцитів)	Гемолітична активність		Титри	
				спленоцитів	сироватки	аглютининів	гемоензимів
інтактні		11±1	108±4	3,6±0,5	1,3±1	0,34±0,05	0,42±0,05
Оптимальна доза антигену	контроль	68±6	632±21	23±1,9	9,8±0,6	9,5±0,65	9,5±0,7
	отримавші засіб	94±3	795±15	30,4±1,9	10,1±1	9,25±0,3	9,25±0,45
субоптимальна доза антигену	контроль	24±3	203±21	5,3±0,1	1,2±0,1	1,43±0,21	2,1±0,2
	отримавші засіб	48±2	498±20	9,9±0,9	3,8±0,2	3,89±0,32	4,27±0,28
Оптимальна доза антиген + циклофосфан	контроль	29±4	351±29	12,1 ±0,4	5,4±0,3	4,05±0,27	5,25±0,32
	отримавші засіб	45±3	439±15	16,2±0,5	6,5±0,4	6,03±0,32	6,2±0,4

Аналіз результатів досліджень дозволяє зробити висновок щодо більш високих імуностимулюючих властивостей засобу по запропонованому

способу в порівнянні з прототипом. Інтенсивність реакції при введенні засобу збільшується в 2-2,5 разів.