



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **53381** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
**A61K 36/00**  
**A61K 129/00** (2006.01)  
**A61P 43/00**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧОЮ ДІЄЮ

1

2

(21) u201002469

(22) 05.03.2010

(24) 11.10.2010

(46) 11.10.2010, Бюл.№ 19, 2010 р.

(72) ДРОГОВОЗ СВІТЛАНА МЕФОДІЇВНА, ХВО-  
РОСТ ОЛЬГА ПАВЛІВНА, МАЛА ОЛЬГА СЕРГІЇВ-  
НА, ЩОКІНА КАТЕРИНА ГЕНАДІЇВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб одержання засобу з мембраностабілі-  
зуючою дією шляхом екстракції подрібненої сирови-  
ни з кори берези бородавчастої (*Betula pendula*)

спиртом етиловим з подальшим відстоюванням одержаного екстракту, фільтрацією та згущенням, який **відрізняється** тим, що екстракцію здійснюють при температурі 90°C принаймні тричі по 1 годині при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10-1:15, екстракти об'єднують, сировину додатково промивають потрібною кількістю екстрагенту, одержаний змив додають до об'єднаного екстракту, охолоджують і відстоюють протягом 10-12 годин.

Корисна модель відноситься до фармації та медицини, а саме до способів одержання біологічно активних засобів з рослинної сировини, які можуть бути використані з лікувальною метою безпосередньо або в якості активних субстанцій лікарських препаратів.

У сучасній медицині спостерігається тенденція надання як хворим так і лікарями переваги лікарським засобам природного походження. Такі засоби у своїй більшості нетоксичні, мають м'яку терапевтичну дію, придатні до тривалого вживання, не викликають алергії і т. ін.

З лікувальною метою широко використовують практично всі частини рослини береза: бруньки, листя, сік, деревину, кору.

Препарати берези проявляють сечогінні, жовчогінні, протиспазматичні, протизапальні, ранозагоювальні, антивірусні, антифунгальні, глистогінні й протипаразитарні властивості. Вони регулюють обмін речовин, функцію травного тракту та жіночих статевих органів. Березовий сік виявляє й загально-зміцнюючу дію [1].

Великий практичний інтерес представляє кора берези як джерело біологічно активних комплексів з широким спектром фармакологічної дії, придатних для створення нових фармацевтичних препаратів. В екстрактах зовнішньої кори берези пере-

важають пентациклічні тритерпеноїди ряду лупану, основним компонентом яких є бетулін.

Різні джерела містять інформацію про те, що витяги з кори берези, одержані шляхом екстракції органічними розчинниками, зокрема спиртом етиловим, гексаном, метил-трет-бутиловим ефіром, метанолом, проявляють противиразкову, цитотоксичну, противірусну, антиоксидантну, протизапальну, антистресорну, гастропротекторну, протитуберкульозну, протигрибкову, антимікробну, гемолітичну, гіполіпідемічну, жовчогінну дію тощо [2-6].

Відомий спосіб одержання з кори берези бетуліну та лупеолу [7], який полягає у екстракції сировини метил-трет-бутиловим ефіром при кип'ятінні з подальшою обробкою екстракту лужним розчином і перекристалізацією одержаного продукту з етилацетату. Вихід цільового продукту становить 15%.

Недоліками зазначеного способу можна вважати його відносну складність та використання принаймні трьох токсичних реактивів при здійсненні способу.

Відомий також спосіб одержання гексанового екстракту кори берези шляхом екстракції гексаном подрібненої до фракції 1-2мм і висушеної при температурі 105°C сировини у апараті Сокслета про-

(19) **UA** (11) **53381** (13) **U**

тягом 36-40 годин з подальшим видаленням гексану на роторному випарювачі [8]. Одержують продукт у вигляді порошку білого кольору.

До недоліків такого способу можна віднести його довготривалість та використання токсичного реагенту.

Найближчим до заявленого є спосіб одержання сухого екстракту кори берези, який полягає у тому, що висушену подрібнену сировину екстрагують переважно 40% етанолом у співвідношенні сировина:екстрагент 1:1 методом реперколяції [9]. Одержані витяги відстоюють при температурі 3-5°C протягом 3 діб і піддають вакуумному згущенню на роторному випарювачі, а потім сушать у сушильній шафі та вакуум-екскавторі до залишкової вологості не більше 5%. Одержаний екстракт має антистресорну та противиразкову дію.

Проте відомий спосіб потребує близько чотирьох діб для його здійснення і не забезпечує одержання готового продукту з мембраностабілізуючою дією.

Завдання корисної моделі полягає у розробці технологічного способу одержання густого екстракту з кори берези, який, завдяки заявленій сукупності параметрів способу, забезпечує одержання засобу з ефективною мембраностабілізуючою дією з виходом, доцільним для промислового виробництва зазначеного засобу і його застосування у складі нових лікарських препаратів відповідної дії.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з мембраностабілізуючою дією з кори берези бородавчастої (*Betula pendula*) шляхом екстракції подрібненої сировини спиртом етиловим з подальшим відстоюванням одержаного екстракту, фільтрацією та згущенням, згідно з корисною моделлю передбачено, що екстракцію здійснюють 41-50% спиртом етиловим, сировину екстрагують при температурі 90°C принаймні тричі по 1 годині при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10-1:15, екстракти об'єднують, а сировину додатково промивають потрібною кількістю екстрагенту, одержаний злив додають до об'єданого екстракту, охолоджують і відстоюють протягом 10-12 годин.

В якості сировини для здійснення заявленого способу було обрано кору берези бородавчастої (*Betula pendula*), яка містить широкий перелік біологічно активних речовин. З усіх видів берези (біла, пухнаста, дніпровська, низька, повисла) береза бородавчаста має найширше розповсюдження в Україні, досягає 10-12м заввишки і є екологічно доцільним джерелом сировини (кори), яка здебільшого є відходом деревообробної промисловості.

Авторами виявлено невідому з джерел інформації мембраностабілізуючу дію густого екстракту з кори берези бородавчастої, одержаного за заявленим способом, всі параметри якого визначенні дослідним шляхом.

Для вибору оптимального екстрагенту для здійснення заявленого способу були досліджені розчинники, що найповніше відповідають вимогам до екстрагентів, доступні та широко застосовувані у галузі отримання засобів рослинного походження, а саме вода очищена та спирт етиловий різної концентрації. Критеріями оцінки було обрано вихід

екстрактивних речовин. Отримані результати узагальнені у таблиці 1.

Таблиця 1

Кінетика виходу екстрактивних речовин з кори берези бородавчастої у залежності від використаного екстрагенту (m=5)

№ з/п	Екстрагент	Вихід екстрактивних речовин, % у перерахунку на абсолютно суху речовину
1.	вода очищена	16,24±0,174
2.	20% спирт етиловий	20,76±0,214
3.	41% спирт етиловий	29,92±0,65
4.	50% спирт етиловий	29,64±0,52
5.	60% спирт етиловий	23,82±0,51
6.	80% спирт етиловий	28,636±0,58
7.	96% спирт етиловий	20,90±0,48

За даними табл. 1, найвищий вихід екстрактивних речовин спостерігався при використанні в якості екстрагенту 41-50% спирту етилового (від 29,92±0,65% до 29,64±0,52%). Інші досліджені варіанти розчинників не забезпечували достатньо високого результату.

Трохи менший вихід екстрактивних речовин (28,636±0,58%) одержаний для 80% спирту етилового, проте його використання є економічно недоцільним, бо кращий результат досягнуто при використанні екстрагенту нижчої концентрації.

Експериментальним шляхом було визначено інші ознаки заявленого способу: співвідношення сировини до екстрагенту, час, кратність та температура екстракції. Оптимальні умови здійснення заявленого способу були визначені за збалансованою сукупністю суттєвих ознак, яка забезпечує достатній вихід кінцевого продукту з вираженою мембраностабілізуючою дією і є економічно доцільною.

Заявлене співвідношення сировини:екстрагент (1:10-1:15) та час проведення екстракції (1 год.) при принаймні трикратному екстрагуванні однієї порції сировини та додатково передбачене промивання відпрацьованої сировини трикратною кількістю екстрагенту з метою змивання залишків екстракту, забезпечують вичерпне вилучення з сировини комплексу біологічно активних речовин (БАР) з мембраностабілізуючою дією.

Здійснення процесу при температурі 90°C також сприяє вичерпній екстракції БАР і дозволяє скоротити тривалість кожного етапу екстракції до 1 години.

Дослідним шляхом було визначено, що для заявленого способу необхідним і достатнім є час відстоювання сумарного екстракту протягом 10-12 годин на відміну від прототипу, згідно з яким цей час дорівнює трьом добам.

Сукупність ознак заявленого способу є новою, невідомою з джерел інформації.

Заявлений спосіб здійснюється наступним чином. Суху, подрібнену до розміру часток 1-2мм кору берези бородавчастої екстрагують 41-50%

спиртом етиловим принаймні тричі по 1 годині при сумарному співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:10-1:15 при температурі 90°C. Одержані екстракти об'єднують. Сировину додатково промивають трикратною кількістю екстрагента, злив додають до об'єданого екстракту, відстоюють протягом 10-12 годин, фільтрують, концентрують переважно у вакуум-випарному апараті та упарюють до стану густого екстракту з залишковою вологістю 20-25%.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1.

1,00кг кори берези бородавчастої, подрібненої до розміру часток 1-2мм, завантажували у екстрактор. Заливали 4,5л 41% спирту етилового (з урахуванням коефіцієнту поглинання екстрагенту) та екстрагували протягом 1 години при температурі 90°C. Зливали екстракт в об'ємі 2,905л у прийомник. Сировину екстрагували ще двічі за тих же умов новими порціями екстрагенту 3,6л та 3,5л при загальному співвідношенні сировина:екстрагент 1:10. Отримані екстракти об'єднували. Сировину в екстракторі промивали 3,0л екстрагенту для змиву екстракту, віджимали, отримані промивні витяги додавали у прийомник до об'єданого екстракту. Сумарний екстракт в обсязі 15,495л охолоджували та відстоювали протягом 10 годин для видалення дрібних часток сировини та високомолекулярних сполук. Потім екстракт відфільтровували крізь бейтінг від осаду та концентрували за допомогою ротаційного вакуумно-випарного апарату до видалення спирту етилового. Кубовий залишок упарювали у вакуумно-сушильній шафі до вологовмісту 20%. Вихід кінцевого продукту склав 15,1% від маси повітряно сухої сировини.

Приклад 2.

1,00кг кори берези бородавчастої, подрібненої до розміру часток 1-2мм, завантажували у екстрактор. Заливали 4,5 л 50% спирту етилового (з урахуванням коефіцієнту поглинання екстрагенту) та екстрагували протягом 1 години при температурі 90°C. Одержаний екстракт зливали у прийомник.

Сировину екстрагували ще двічі за тих же умов новими порціями екстрагенту (загальне співвідношення сировина:екстрагент 1:15). Отримані екстракти об'єднували. Сировину в екстракторі промивали 3,0л екстрагенту для змиву екстракту, віджимали. Отримані промивні витяги додавали у прийомник до об'єданого екстракту. Сумарний екстракт охолоджували та відстоювали протягом 12 годин для видалення дрібних часток сировини та високомолекулярних сполук. Потім екстракт відфільтровували крізь бейтінг від осаду та концентрували за допомогою ротаційного вакуумно-випарного апарату до видалення спирту етилового. Кубовий залишок упарювали у вакуумно-сушильній шафі до вологовмісту 25%. Вихід кінцевого продукту склав 18,4% від маси повітряно сухої сировини.

Приклад 3.

Визначення мембраностабілізуючої дії засобу, одержаного за заявленим способом, проводили на моделі спонтанного гемолізу у щурів за методом F.C.Jager [10]. Метод базується на визначенні протягом години екстинції позаеритроцитарного гемоглобіну, який надходить до міжклітинного середовища внаслідок спонтанного лізису мембран еритроцитів та активації перекисного окиснення ліпідів. Екстинція визначається при 540nm.

Дослідження проводили на 20 безпородних щурах масою 170-190г. Дослідних тварин було поділено на 4 групи: інтактний контроль, контрольна патологія та тварини, які одержували у профілактичному режимі досліджуваний засіб у дозах 75 мг/кг та 25 мг/кг відповідно.

Мембраностабілізуючу активність (А) визначали за наступною формулою:

$$A = \frac{C_k - C_d}{C_k} \cdot 100\%$$

де

$C_k$  - ступінь гемолізу у контрольній групі;

$C_d$  - ступінь гемолізу у дослідній групі.

Результати дослідів наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Визначення мембрано стабілізуючої активності засобу, одержаного за заявленим способом

№ з/п	Група тварин	Доза, мг/кг	Ступінь гемолізу, %	Активність, %
1.	Інтактний контроль	-	93,3±1,1	-
2.	Контрольна патологія	-	25,4±1,7*	-
3.	Досліджуваний засіб	75	19,1±1,3*	24,8
4.	Досліджуваний засіб	25	17,8±0,9*	29,9

\* - відхилення достовірно відносно контрольної патології

Дані табл. 2 свідчать про наявність достовірної вираженої мембраностабілізуючої дії засобу, одержаного за заявленим способом.

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання засобу з кори берези бородавчастої у вигляді густого екстракту з вираженою мембраностабілі-

зуючою дією. Заявлений спосіб забезпечує простий у виконанні, не потребує дефіцитних або шкідливих реактивів і може бути здійснений на стандартному обладнанні фармацевтичного підприємства.

Засіб, одержаний за заявленим способом, має широкий спектр фармакологічних властивостей, обумовлений вмістом БАР у вихідній сировині, та проявляє ефективну мембраностабілізуючу дію. Такий засіб є нетоксичним, придатним до тривалого застосування і може бути використаний як діюча речовина лікарських засобів у різних лікарських формах.

Джерела інформації:

1. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник. За ред. А.М.Гродзінського, Київ, Головна редакція Української радянської енциклопедії ім. М.П. Бажанова, 1991, с 56-58

2. О.А.Рапп, В.Г.Пашинський, Т.Н.Фомина. Противоязвенная активность экстракта из коры BETULA PENDULA ROTH // Растительные ресурсы. -1995.-Вып.2.-с.50-56.

3. Е.Б.Шенцова, М.М.Анисимов, Н.Ф.Самошина и др. Биологическая активность ресурсных видов. Структурно-функциональные свойства тритерпеноидов ряда лупана. Цитотоксическая активность бетулина, дигидробетулина и их производных на карциноме Эрлиха в условиях культуры in vitro.//Растительные ресурсы. - 2005 - вып.2. - том 41.-с.116-121.

4. О.Б.Флехтер, Л.Р.Нигматуллина, Л.А.Балтика и др. Получение бетулиновой кислоты из экстракта бетулина. Противовирусная и противоязвенная активность некоторых родственных

терпеноидов // Химико-фармацевтический журнал. - 2002 - №9. - том 36. - С.26-28

5. А.В.Погребняк, Ю.К.Василенко, Э.Т.Оганесян и др. Компьютерный прогноз и направленный синтез нового производного бетулина, обладающего противотуберкулезным действием. // Химико-фармацевтический журнал. - 2002. - №10. - том 36. - С.18-20

6. Ю.К.Василенко, В.Ф.Семенченко, Л.М.Фролова и др. Фармакологические свойства тритерпеноидов коры березы. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 1993. - Том 56. - №4. - С.53-55

7. Патент 2270202, RU. МПК C07J53/00 (2006.01), C07J53/00 (2006.01), заявл. 19.07.2004г., опубл. 20.02.2006г.

8. С.А. Кузнецова, Б.Н. Кузнецов, О.Ф. Веселова и др. Изучение состава гексанового экстракта бересты и его токсико-фармакологических свойств. // Химия растительного сырья. - 2008. - №1. - С.45-49

9. О.А.Рапп, В.Г.Пашинский, В.С.Чучалин. Сравнительная оценка фармакологической активности экстрактов коры березы, приготовленных на этаноле различной концентрации. // Химико-фармацевтический журнал. -1991.-№1.-С.3-5

10. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. - К.: Авіценна, 2001. - 528с.