



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **61037** (13) **U**
(51) **МПК (2011.01)**
A61K 36/00
A61K 127/00
A61P 29/00
A61P 31/04 (2006.01)

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 ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА АНТИМІКРОБНОЮ АКТИВНІСТЮ

1

2

(21) u201013777

(22) 19.11.2010

(24) 11.07.2011

(46) 11.07.2011, Бюл.№ 13, 2011 р.

(72) МАЛИЙ ВОЛОДИМИР ВАЛЕНТИНОВИЧ, ДА-
НИЛОВА ІРИНА АНАТОЛІЇВНА, ХВОРОСТ ОЛЬГА
ПАВЛІВНА, МАЛОШТАН ЛЮДМИЛА МИКОЛАЇВНА
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб одержання засобу з протизапальною
та антимікробною активністю, що включає трикра-

тну екстракцію рослинної сировини водно-
спиртовою сумішшю, об'єднання одержаних екст-
рактів з подальшим їх відстоюванням, фільтрацією
та концентруванням до густого стану, який **відріз-
няється** тим, що як рослинну сировину використо-
вують листя ільма граболистого, екстракцію здійс-
нюють 40-60% спиртом етиловим протягом двох
годин при загальному співвідношенні сирови-
на:екстрагент 1:15-1:20 при температурі кипіння
екстрагента.

Корисна модель відноситься до фармації та
медицини, зокрема до способів одержання ком-
плексів біологічно активних речовин з рослинної
сировини, а саме - засобу з протизапальною та
антимікробною активністю з листя ільму граболи-
стого, призначеного для використання у якості ак-
тивної лікарської субстанції у складі препаратів у
різних лікарських формах.

Популярність фітотерапії останнім часом зрос-
тає. Це можна пояснити різними причинами, зокре-
ма тим, що лікарські засоби рослинного походжен-
ня у багатьох випадках діють м'якше, ніж
синтетичні препарати, здебільшого не мають нега-
тивної побічної дії, внаслідок чого придатні до три-
валого вживання, особливо при хронічних захво-
рюваннях. Завжди актуальними є засоби з
протизапальною та антимікробною дією, які мо-
жуть мати застосування при лікуванні широкого
кола хвороб. Збільшення арсеналу таких засобів
дозволить розширити можливості вибору для ін-
дивідуального підходу до лікування хворих.

Відомий спосіб одержання засобу з протиза-
пальною, антимікробною та діуретичною дією з
листя груші [1], згідно з якими сухе подрібнене
листя груші звичайної екстрагують 10% спиртом
етиловим при співвідношенні сировини: екстрагент
1:9-1:11 при кімнатній температурі протягом 10-12
годин. Процес повторюють 5-7 разів з використан-
ням нових порцій екстрагенту. Одержані екстраге-
нти об'єднують і упарюють до 1/18-1/12 поперед-
нього об'єму.

До недоліків відомого способу можна віднести
тривалість процесу, помірну протизапальну дію та
відсутність вираженої антимікробної дії засобу,
одержаного за таким способом.

Відомий також спосіб одержання ранозагоючо-
го та антимікробного засобу [2] шляхом трикратної
екстракції сухого листя горіху волоського 35-45%
спиртом етиловим при загальному співвідношенні
сировина: екстрагент 1:5 і загальній тривалості
процесу екстракції 38-74 години. Одержані екстра-
кти об'єднують, відстоюють протягом 3 діб при
температурі 6-10°C, фільтрують та концентрують

(13) **U**

(11) **61037**

(19) **UA**

до стану густого або сухого екстрагенту. Вихід за сухим залишком становить 6-10% від маси сировини. Недоліком відомого способу можна вважати довготривалість процесу та низький вихід цільового продукту.

Завдання винаходу полягає у створенні нового способу одержання засобу з протизапальною та антимікробною дією шляхом використання нетрадиційної сировини - листя ільму граболистого, що у поєднанні з новими ознаками заявленого способу дозволяє одержати засіб з вираженою комплексною фармакологічною дією, з високими виходом кінцевого продукту при помірній тривалості технологічного процесу.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з протизапальною та антимікробною активністю, що включає багаторазову екстракцію рослинної сировини водно-спиртовою сумішшю, об'єднання одержаних екстрактів з подальшим їх відстоюванням, фільтрацією та концентруванням до густого стану, на відміну від найближчого аналогу передбачено, що як рослинну сировину використовують листя ільму граболистого, екстракцію здійснюють 40-60% спиртом етиловим при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:15-1:20 протягом двох годин при температурі кипіння екстрагенту.

Як рослинну сировину для здійснення заявленого способу обрано листя ільму (в'язу) граболистого (*Ulmus Carpinifolia suckow*) [3]. Відоме використання в народній медицині кори ільму граболистого у формі відварів або водних настоїв для лікування запалення слизових оболонок та лікування у вигляді компресів на рани, що погано загоюються. Листя ільму граболистого не є офіційною сировиною, а використання його спиртових екстрактів з лікувальною метою невідоме з джерел інформації.

Авторами вперше досліджено протизапальну та антимікробну дію густого екстракту з листя ільму граболистого, одержаного за заявленим способом, та стандартизовано зазначений екстракт як лікарську субстанцію, придатну для використання як безпосередньо, так і у складі лікарських засобів, виконаних у різних лікарських формах для внутрішнього і зовнішнього застосування. Всі ознаки заявленого способу визначені експериментальним шляхом.

Критерієм визначення оптимального екстрагенту було обрано вихід екстрактивних речовин і особливо суми окиснюваних фенолів з сировини. Результати дослідів узагальнено у таблиці 1.

Таблиця 1

Вибір екстрагента

№ з/п	Використаний екстрагент	Вихід сполук, (X±ΔX)	
		екстрактивних речовин	суми окиснюваних фенолів
1	Вода очищена	36,81±0,75	4,13±0,15
2	10% спирт	28,18±1,05	3,26±0,11
3	20% спирт	28,20±0,92	4,28±0,14
4	30% спирт	26,79±0,70	3,73±0,14
5	40% спирт	28,04±0,61	4,45±0,14
6	50% спирт	27,87±0,56	4,81±0,16
7	60% спирт	21,72±0,28	4,54±0,15
8	70% спирт	21,74±0,27	4,60±0,17
9	80% спирт	23,26±0,48	4,72±0,17
10	96% спирт	20,25±0,74	3,47±0,10

За результатами експериментів в якості екстрагенту обрано 40-60% спирт етиловий, переважно 50% спирт етиловий, (за співвідношенням суми окиснюваних фенолів та екстрактивних речовин).

Узагальнені експериментальні дані з вибору співвідношення сировина: екстрагент для 50% спирту етилового наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Вибір співвідношення сировина:екстрагент

№ з/п	Співвідношення сировина-екстрагент	Вихід сполук, (X±ΔX)	
		екстрактивних речовин	суми окиснюваних фенолів
1	1:5	18,72±0,28	3,41±0,11
2	1:10	23,26±0,48	4,45±0,14
3	1:15	25,79±0,70	4,60±0,17
4	1:20	27,45±0,14	4,72±0,17

За максимальним виходом екстрактивних речовин і суми окиснюваних фенолів визначено ефективне співвідношення сировина:екстрагент

1:15-1:20. Збільшення співвідношення понад 1:20 є економічно недоцільним і не призводить до суттєвого збільшення виходу корисних речовин.

Експериментальним шляхом визначено, що оптимальному варіанту здійснення заявленого способу відповідає трикратне екстрагування сировини протягом 2 години кожного разу при сумарному співвідношенні сировина: екстрагент у заявленому інтервалі 1:15-1:20, причому процес найбільш ефективний при температурі кипіння вибраного екстрагенту.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином.

Суше, подрібнене листя ільму граболистого екстрагують 40-60% спиртом етиловим протягом двох годин при температурі кипіння екстрагенту. Одержаний екстракт зливають. Процес здійснюють тричі при сумарному співвідношенні сировина: екстрагент 1:15-1:20. Одержані екстракти об'єднують, відстоюють протягом 24-48 годин при кімнатній температурі, фільтрують та концентрують переважно упарюванням під вакуумом до густого стану.

Вихід кінцевого продукту становить 23-25% від ваги повітряно сухої сировини. Одержаний за заявленим способом густий екстракт листя ільму граболистого має вигляд темно-коричневої смолоподібної субстанції зі слабким специфічним запахом та смаком, яка легко розчинна у 50% спирті етиловому, дуже малорозчинна у 96% спирті етиловому, практично нерозчинна у хлороформі та діетиловому ефірі. Згідно з параметрами стандартизації густого екстракту листя ільму граболистого, одержаного за заявленим способом, вміст суми окиснюваних фенолів у перерахунку на абсолютного сухий залишок має бути не менше 12,0%, а вміст суми кислот гідроксикоричних у перерахунку на абсолютно сухий залишок у розрахунку на кислоту хлорогенову має бути не менше 5,0%.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1

5 кг подрібненого до середнього розміру часток $3,16 \pm 0,07$ мм сухого листя ільму граболистого екстрагували 25 л 50% спирту етилового (1:5) (тут і надалі кількість екстрагенту наведено без збільшення на поглинання сировиною та інші технологічні втрати), при температурі кипіння екстрагента 84°C протягом 2 годин. Одержаний екстракт злили у збірник. Ту ж саму порцію сировини ще двічі екстрагували 50% спиртом етиловим при співвідношенні 1:5 (загальне співвідношення 1:15) за аналогічних умов. Всі одержані екстракти об'єднали, відстояли протягом доби при кімнатній температурі та профільтрували з метою очищення від механічних домішок та баластних речовин, що випали в осад при відстоюванні. Очищений екстракт упарили у вакуум - циркуляційному апараті до густого стану. Вихід склав 24% від повітряно сухої сировини.

Приклад 2

7 кг подрібненого сухого листя ільму граболистого трикратно екстрагували 40% спиртом етиловим способом, аналогічним наведеному у прикладі

1. Вихід готового продукт - 23% від повітряно сухої сировини.

Приклад 3

5 кг подрібненого сухого листя ільму граболистого тричі екстрагували 60% спиртом етиловим по 2 години при температурі кипіння екстрагенту і загальному співвідношенні сировина: екстрагент 1:20. Об'єднаний екстракт відстоювали протягом двох діб. Після упарювання одержали густий екстракт листя ільму граболистого з виходом 25% від повітряно сухої сировини.

Приклад 4

Вивчення протизапальної активності густого екстракту листя ільму граболистого у дозі 50 мг/кг проводили на моделі зимозанового набряку у щурів. Густий екстракт розчиняли у воді для ін'єкцій та вводили дослідним тваринам внутрішньо шлуночково. В якості референт-препарату було обрано кверцетин у дозі 50 мг/кг, яка є дозою ЕД 50 за протизапальною активністю. Досліджувані препарати вводили за 1 год до індукції запалення. Контрольним тваринам вводили еквівалентну кількість води.

Гостре асептичне запалення відтворювали введенням щурам зимозану субплантарно у вигляді 2% суспензії у дозі 0,1 мл на тварину через 1 год після введення досліджуваних препаратів.

Вимірювання величини набряку лап у щурів проводили за допомогою механічного онкометра за Захаревським А.С. у динаміці: через 1, 2, 3, 6 і 24 год після введення зимозану.

Протизапальну активність густого екстракту листя ільму граболистого при гострому ексудативному запаленні визначали антиексудативним ефектом, тобто здатністю зменшувати розвиток набряку у порівнянні з групою контрольної патології, і розраховували за наступною формулою:

$$A = 100 - \frac{M_0 - M_3}{M_0^k - M_3^k} \cdot 100,$$

де A - протизапальна активність, %;

M_0 - об'єм набряклої лапи в досліді (у лікованих тварин);

M_3 - об'єм здорової лапи в досліді;

M_0^k - об'єм набряклої лапи в контролі (у нелікованих тварин);

M_3^k - об'єм здорової лапи в контролі.

Результати проведеного дослідження наведено в таблиці 3.

Отримані дані свідчать, що в умовах зимозанового запалення густий екстракт листя ільму граболистого виявляє виражену протизапальну активність та достовірно, порівняно з контролем, зменшує Об'єм набряклої кінцівки. Протизапальна активність густого екстракту у дозі 50 мг/кг на моделі зимозанового набряку становила 40,2%, що в 1,67 рази вище за активність препарату порівняння кверцетин (24,0%).

Таблиця 3

Протизапальна активність густого екстракту листа ільму граболистого
на моделі зимозанового набряку у щурів (n=6)

Умови досліджу	Дози, мг/кг	Об'єм набряку, у/о	Протизапальна активність, %
Контроль	-	29,0±2,4	
Густий екстракт листя ільму граболистого	50	16,8±0,65**	42,0
Кверцетин	50	22,0±1,77*	24,0

* - розбіжність вірогідна по відношенню до контролю;

** - розбіжність вірогідна по відношенню до препарату порівняння

Приклад 5

Антимікробну активність заявленого засобу вивчали у досліджах *in vitro* за відомими методиками дифузії в агар (метод "коподязів") з використанням двошарової заливки чашок Петрі. Для випробування використовували наступні штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus*, штам ATCC 25923; *Echerichia coli*, штам ATCC 25922;

Bacillus subtilis, штам ATCC 6633; *Candida albicans*, штам ATCC 85/653. В якості критерію фармакологічної активності обрано діаметри зон затримки росту мікроорганізмів.

Результати вивчення спектру антимікробної активності засобу, одержаного за заявленим способом, наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

Вивчення антимікробної активності густого екстракту листя ільму граболистого

Досліджуваний засіб	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів (мм)			
	<i>St. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>C. albicans</i> ATCC 85/653
Густий екстракт листя ільму граболистого	14,80±1,04	14,80±1,04	15,20±1,04	13,60±1,42

Аналіз отриманих даних свідчить, що засіб, одержаний за заявленим способом, проявляє достовірну антимікробну дію у відношенні найпоширеніших патогенних мікроорганізмів.

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання засобу рослинного походження, а саме з листя ільму граболистого, з протизапальною та антимікробною дією. Одержаний за новим способом засіб призначений для використання в якості лікарської субстанції у фармацевтичних препаратах з різними лікарськими формами, і може знайти застосування у різних галузях медицини: стоматології, отоларингології, дерматології, гастроентерології тощо. Заявлений спосіб простий у використанні,

може бути здійснений на стандартному обладнанні фармацевтичних підприємств, причому для впровадження даного способу існує достатня вітчизняна сировинна база.

Джерела інформації:

1. Патент 77347, Україна, МПК(2006) А61К 36/185, А61К 127/00 (2006.01), А61Р 29/00, А61Р 31/00, А61Р 13/00, заявл. 26.04.2005, опубл. 11.11.2006, бюл. №11.

2. Патент 2152797, РФ, МПК7 А61К 35/78, А61Р 17/02, заявл. 02.06.1999, опубл. 20.07.2000, бюл. №20.

3. <http://medicina.kharkov.ua/herbal/vjaz.html>.