



УКРАЇНА

(19) UA (11) 77347 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 36/185

A61K 127/00 (2006.01)

A61P 29/00

A61P 31/00

A61P 13/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ, АНТИМІКРОБНОЮ ТА ДІУРЕТИЧНОЮ ДІЄЮ ІЗ ЛИСТЯ ГРУШІ

1

2

(21) а200503996

(22) 26.04.2005

(24) 15.11.2006

(46) 15.11.2006, Бюл. № 11, 2006 р.

(72) Кисличенко Вікторія Сергіївна, Новосел Олена Миколаївна, Яковлева Лариса Василівна, Самохін Андрій Олександрович

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(56) UA A 59681 15.09.2003

Лікарські рослини. За ред. А.М. Гродзинського - Київ, Головна ред. Укр. рад. енциклопедії ім. М.П. Бажана, 1990, с.129-130.

SU A1 1319351 22.07.1985

Лавренова Г.В., Лавренов В.К. Энциклопедия лекарственных растений. Т.1.-Изд. "Донецчина", Донецк, 1997.- с. 240-241

UA A 66162 15.04.2004

RU C2 2182010 10.05.2000

(57) 1. Спосіб одержання засобу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією, що включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим з подальшим упарюванням одержаного екстракту, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують листя груші звичайної, екстракцію проводять 10% спиртом етиловим при відношенні сировини до екстрагента (1:9) – (1:11) протягом 9-11 годин, одержаний екстракт упарюють до 1/18-1/20 попереднього об'єму.2. Спосіб за п.1, який **відрізняється** тим, що сировину піддають екстракції 5-7 разів новими порціями екстрагенту, а одержані екстракти об'єднують.

Винахід відноситься до фармації та медицини, а саме до лікарських препаратів рослинного походження, і може бути використаний для лікування запальних захворювань сечовидільної системи.

Арсенал фітопрепаратів, що мають комплексну протизапальну, антимікробну та діуретичну дію досить обмежений.

Добре відомо, що діуретичну активність мають настої та відвари з листя мучниці звичайної та брусниці, у яких діючою речовиною є глікозид арбутин [1].

Проте зазначені засоби не мають вираженої протизапальної та антимікробної дії, до того ж використання листя даних рослин є економічно невідповідним через обмежене поширення цих видів в Україні.

Відомі способи одержання з листя рослин різних родів засобів з комплексною, в тому числі про-

тизапальною дією. Наприклад, відомий спосіб одержання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю [2], який полягає у екстракції листя винограду сорту Дабугі 50% спиртом етиловим при співвідношенні сировини: екстрагент 1:10 з подальшим упарюванням одержаного екстракту до водного залишку, фільтрацією та ресорбцією фенольних сполук з осаду водою, об'єднанням фільтрату з одержаним водним розчином, упарюванням і сушінням.

Засіб, одержаний наведеним способом, не має діуретичної та антимікробної дії. З точки зору технологічних особливостей даного способу він є багатостадійним та потребує підвищеного використання спирту етилового. При цьому спосіб передбачає використання сировини, культивування якої обмежене умовами субтропіків.

(13) C2

(11) 77347

(19) UA

Завданням винаходу є створення способу одержання засобу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією, в якому шляхом використання в якості рослинної сировини листя груші звичайної та проведення екстракції 10% спиртом етиловим при заданих умовах, досягають одержання економічним доступним способом ефективного природного засобу з вираженою фармакологічною дією для лікування захворювань сечовидільної системи.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією, що включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим з подальшим упарюванням одержаного екстракту, згідно з винаходом передбачено використання в якості рослинної сировини листя груші звичайної, проведення екстракції 10% спиртом етиловим при співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:9-1:11 протягом 9-11 годин, упарюванням одержаного екстракту до 1/18-1/20 об'єму. З метою вичерпної екстракції комплексу біологічно активних речовин з сировини винаходом передбачено, що сировину піддають екстракції 5-7 разів новими порціями екстрагенту, а одержані екстракти об'єднують.

Відоме використання у народній медицині плодів груші звичайної для лікування різних запальних процесів, зокрема запалення сечостатевої системи, що обумовлено вмістом у плодах груші різних груп біологічно активних речовин. Високий вміст калію робить грушу добрим сечогінним засобом [3]. Листя груші вивчені недостатньо. З літературних джерел відомо, що вони містять вуглеводи, аскорбінову кислоту, різні класи фенольних сполук [3].

Авторами вперше запропоновано використання листя груші звичайної для одержання засобу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією.

Дана сировина є дешевою, доступною, може заготовлятися після збору врожаю плодів або у період листопаду.

Експериментальним шляхом було встановлено, що оптимальним екстрагентом для листя груші звичайної є 10% спирт етиловий. При цьому досягається ефективна екстракція необхідного комплексу біологічно активних речовин з сировини при економічному витрачанні екстрагенту.

При проведенні дослідів було визначено співвідношення сировини до екстрагенту як 1:9-1:11. При зменшенні кількості екстрагенту погіршується процес екстракції (до повного поглинання екстрагенту сировиною). Збільшення екстрагенту понад задане співвідношення економічно недоцільне.

Експериментально визначено, що при проведенні екстракції в одну стадію (однією порцією екстрагенту) процес триває 10-12 годин.

Для вичерпної екстракції з сировини комплексу біологічно активних речовин з заданим спектром фармакологічних активностей одну й ту ж порцію сировини піддають екстракції новими пор-

ціями екстрагенту при вище наведеному співвідношенні 5-7 разів. Об'єднання одержаних екстрактів забезпечує збільшення кількісного виходу та якості екстракту.

Згідно з заявленим способом одержаний екстракт упарюють до 1/18-1/20 об'єму.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Сухе листя груші звичайної подрібнюють до розміру часток 3-5мм, засипають в екстрактор, заливають 10% спиртом етиловим при співвідношенні сировини: екстрагент 1:9-1:11, екстрагують при кімнатній температурі протягом 10-12 годин. Зливають одержаний екстракт. Процес повторюють 5-7 разів з використанням нових порцій екстрагенту до повного вилучення біологічно активних речовин з заданими активностями з сировини. Одержані екстракти об'єднують і упарюють до 1/18-1/20 попереднього об'єму.

В результаті здійснення заявленого способу одержують засіб з протизапальною, антимікробною та діуретичною активністю у формі рідкого екстракту темно-коричневого кольору, з приємним грушевим запахом, кислувато-гіркуватий на смак, з солонуватим присмаком з наступними технологічними та аналітичними параметрами: питома вага - 1,11г/см<sup>3</sup>, сухий залишок - 24,3%, вміст спирту етилового - 0,4%, кількісний вміст діючих речовин: арбутину - 2,06%, флавоноїдів - 1,02%, дубильних речовин - 6,24%, оксикоричних кислот - 2,88%.

Винахід ілюструється прикладами.

#### Приклад 1

1000г сухого листя груші звичайної подрібнювали до розміру часток 3-5мм, заливали 6500мл 10% спирту етилового і настоювали протягом 10 годин. Отриманий екстракт зливали в ємкість для збору екстракту, а сировину заливали новою порцією екстрагенту у тій же кількості. Екстракцію повторювали 5 разів. Отримані екстракти об'єднували і упарювали до 1/19 об'єму. Було отримано 1000мл екстракту.

#### Приклад 2

Протизапальну дію засобу у формі екстракту, одержаного за заявленим способом, вивчали на моделі антиексудативного набряку, який викликали введенням 1% розчину карагеніну щурам субплантарно у задню лапу в дозі 0,1мл/тварину.

Засіб у формі екстракту, одержаний за заявленим способом, та настій із листя мучниці як препарат порівняння вводили внутрішньошлунково в дозі 1,05мл/к, до ін'єкції карагеніну. Про розвиток набряку судили по різниці об'ємів лап з набряком та без ( $\Delta V$ ) в динаміці. Протизапальну активність оцінювали за антиексудативною дією препаратів і розраховували по формулі:

$$(\Delta V_{\text{конт}} - \Delta V_{\text{дослід}}) / \Delta V_{\text{конт}}, \text{ де}$$

$\Delta V_{\text{конт}}$  - різниця об'ємів лап з набряком та без у контрольній групі;

$\Delta V_{\text{дослід}}$  - різниця об'ємів лап з набряком та без тварин дослідної групи.

Результати експерименту представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Протизапальна активність засобу у формі екстракту, одержаного за заявленим способом, у порівнянні з настоем із листя мучниці звичайної

Умови досліджу	Динаміка	протизапальної		активності $\Delta V$ , ум. од.	
	Через 1 год.	Через 2 год.	Через 3 год.	Через 4 год.	
Екстракт із листя груші звичайної	10,3±0,6* (44,6%)**	15,2±1,3* (44,3%)**	15,2±0,8* (52,5%)**	15,8±1,2* (40,6%)**	
Настій із листя мучниці звичайної	15,8±1,8 (15%)**	23,2±2,7 (15%)**	25,2±2,7 (21,2%)**	25,1±2,4 (12,8%)**	
Контрольна патологія	18,6±1,6	27,3±0,8	32±1,3	28,8±1,7	

Примітки: \* - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної групи тварин,  $P \leq 0,05$ ;

\*\* - у порівнянні з контрольною патологією

Отримані результати показали, що екстракт із листя груші виявляє виражену протизапальну дію, а настій із листя мучниці має помірну протизапальну активність. За протизапальною дією засіб, одержаний за заявленим способом, перевищує дію препарату порівняння - настій із листя мучниці - у середньому на 29,5%.

Приклад 3. Антимікробну активність засобу, одержаного за заявленим способом, вивчали загальноприйнятим у мікробіологічній практиці методом дифузії в агар у досліджах *in vitro*. Вибір тест-штамів проводили з урахуванням етіологічної структури збудників захворювань сечостатевої системи. Як тест-штами використовували еталонні штами мікроорганізмів з американської типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 і

клінічні штами *Staphylococcus aureus* кл.17, виділені з матеріалу хворих із гнійно-запальними захворюваннями сечостатевої системи. Досліди повторювали тричі у відношенні кожного штаму мікроорганізму. При проведенні досліджень по вивченню антимікробної дії засобу, одержаного за заявленим способом, використовували м'ясопептонний агар, що містить 120мг % змінного азоту. Рівень антимікробної дії оцінювали за діаметром зони затримки росту мікроорганізму навколо лунки з внесеним препаратом, оцінюючи його за наступною шкалою: діаметр зони затримки росту мікроорганізму <14-15 - стійкий штам; 15-18 - слабко чутливий штам; >18 чутливий штам.

Усереднені дані трьох експериментів у відношенні кожного з мікроорганізмів наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Антимікробна дія засобу у формі екстракту, одержаного за заявленим способом

Засіб	Діаметр зони затримки росту мікроорганізму, мм				
	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>S.aureus</i> клініч. №17	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
Екстракт	25,0±0,2	25,2±0,2	15,1±0,2	18,3±0,3	20,1±0,0

Результати проведених досліджень показали, що досліджуваний зразок засобу у формі екстракту, одержаного за заявленим способом, має широкий спектр антимікробної дії. Порівняльна оцінка рівня антимікробної активності екстракту у відношенні вивчених тест-штамів свідчить про більш виражений ефект у відношенні культур грампозитивних бактерій - *S. aureus* (включаючи як музейні, так і клінічні штами) і *B. subtilis*.

Виявлену антимікробну дію екстракту можна пояснити наявністю в листі груші фенологікозиду - арбутину, вміст якого досягає 0,0004-0,0015%, а в отриманому екстракті складає 2,06%.

Приклад 4. При вивченні діуретичної дії засобу, одержаного за заявленим способом, було використано уніфіковану методичну схему. Самці щурів були розділені на 3 групи: контрольна і дві дослідних. Показники діуретичної дії, зокрема діурез, вивчали у перший день і через тиждень після початку експерименту. Для вивчення діуретичної дії в ці терміни контрольним тваринам вводили щоденно по 5мл дистильованої води, а дослідним

- засіб у формі екстракту в дозах 1,05мл/кг і 2,9мл/кг і дистильовану воду до одержання загальної кількості рідини 5мл.

Результати вивчення діуретичної дії при введенні дослідженого екстракту наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Вивчення діуретичної дії засобу у формі екстракту, одержаного за заявленим способом

Термін досліджу	Доза засобу	Діурез, мл
1 день	контроль	1,45±0,19
	1,05мл/кг	3,63±0,62
	2,9мл/кг.	3,42±0,77
1 тиждень	контроль	3,12±0,70
	1,05мл/кг	3,62±1,22
	2,9мл/кг	3,62±1,22

Аналіз даних таблиці 3 свідчить, що засіб у формі екстракту, одержаний за заявленим способом, виявляє виражену діуретичну дію.

Таким чином, заявлено спосіб одержання за-

собу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією. Даний спосіб простий у виконанні, економічно вигідний, передбачає використання дешевої, доступної, розповсюдженої на Україні сировини, не потребує дорогих і токсичних реактивів, екологічно нешкідливий, може бути здійснений в умовах хіміко-фармацевтичних підприємств з використанням стандартного обладнання.

В результаті здійснення способу одержують засіб у формі екстракту з вираженою протизапальною, антимікробною та діуретичною активністю. Засіб нетоксичний, не викликає алергічної та улцерогенної дії, може бути рекомендований для тривалого безпечного вживання при лікуванні хронічних захворювань сечовидільної системи. Одержаний за заявленим способом засіб може бути

застосований як самостійний лікарський засіб, так і як діюча субстанція для створення різних лікарських форм.

Джерела інформації:

1. Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11 изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - С.275-277; С.278-279.

2. Деклараційний патент на винахід №59681 А, Україна, МПК 7 А61К35/78, заявка №2002119121, заявл. 11.11.2002, опубл. 15.09.2003, Бюл. №9, 2003р.

3. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae-Haloragaceae. - Л.: Наука, 1987.- С.73.