



УКРАЇНА

(19) UA (11) 85925 (13) C2  
(51) МПК (2009)  
A61K 36/18  
A61K 36/185  
A61K 131/00 (2008.04)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА РЕПАРАТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ

1

(21) а200706251  
(22) 06.06.2007  
(24) 10.03.2009  
(46) 10.03.2009, Бюл.№ 5, 2009 р.  
(72) КОВАЛЬОВ СЕРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA,  
КОВАЛЬОВ ВОЛОДИМИР МИКОЛАЙОВИЧ, UA,  
БЕРЕСТОВА СВІТЛАНА ІГОРІВНА, UA, МАЛО-  
ШТАН ЛЮДМИЛА МИКОЛАЇВНА, UA, ГЛАДЧЕНКО  
ОЛЕГ МИХАЙЛОВИЧ, UA, УЛАНОВА ВІРА АНА-  
ТОЛІЇВНА, UA  
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ, UA  
(56) SU A 393833, 10.08.1973.  
SU A 611926, 25.06.1978.  
RU 2241484, 10.12.2004.  
UA U 14493, 15.05.2006.  
UA U 15750, 17.07.2006.

2

UA C2 35409, 15.12.2003.  
UA A 42159, 15.10.2001.  
(57) 1. Спосіб одержання комплексу біологічно  
активних речовин з протизапальною та репарати-  
вною активністю з шишок хмелю звичайного шля-  
хом їх екстракції гарячою водою з наступною філь-  
трацією, який **відрізняється** тим, що екстракцію  
здійснюють десятикратною кількістю води при те-  
мпературі не менше 70°C принаймні у три етапи з  
подальшим об'єднанням одержаних екстрактів,  
упарюванням і сушкою в вакуумі при температурі  
90-100°C.  
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що пер-  
ший етап екстракції здійснюють принаймні протя-  
гом двох годин, а тривалість кожного наступного  
етапу дорівнює чверті цього періоду.

Винахід відноситься до фармації, а саме до способів одержання комплексів біологічно активних речовин рослинного походження з протизапальною та репаративною активністю, зокрема з шишок хмелю, що можуть бути використані в якості лікарських субстанцій для одержання засобів у різних лікарських формах.

У фітотерапії ряду захворювань часто використовують хміль як лікарську сировину.

Шишки хмелю входять до складу седативних лікарських засобів. Спиртовий екстракт шишок хмелю міститься у препараті уролесан. Ефірна олія хмелю входить до седативних препаратів валокордин та корвалдин [1].

Відомий спосіб одержання настою з шишок хмелю як засобу, що вгамовує біль при лікуванні радикуліту у період загострення [2]. Згідно з цим способом 25г шишок хмелю заливають 1 л води, кип'ятять на водяній бані протягом 15 хвилин, охолоджують 5 хвилин і проціджують. Одержаний водний настій вживають по 200мл тричі на день.

До недоліків відомого способу можна віднести одержання настою при кип'ятінні, що частково

призводить до руйнування термолабільних речовин, до того ж водний настій є нестабільною лікарською формою з коротким терміном застосування.

Завданням винаходу є створення способу одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною та репаративною активністю шляхом екстрагування шишок хмелю звичайного, що у сукупності з заявленими параметрами нового способу обумовлює одержання нетоксичного засобу з вираженою фармакологічною активністю, який може бути використаний в якості лікарської субстанції при створенні препаратів у різних лікарських формах.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною та репаративною активністю з шишок хмелю звичайного шляхом їх екстракції з наступною фільтрацією, винаходом передбачено, що екстракцію здійснюють десятикратною кількістю води при температурі не менше 70°C принаймні у три етапи з подальшим об'єднанням одержаних екстрактів, упарюванням і сушкою.

(13) C2

(11) 85925

(19) UA

Згідно з винаходом перший етап екстракції здійснюють принаймні протягом двох годин, а тривалість кожного наступного етапу дорівнює чверті цього періоду.

З джерел інформації хміль відомий як лікарська сировина з досить широким спектром фармакологічної дії: анальгетичної, протимікробної, противиражкової, седативної, снодійної, сокогонної, такої, що знижує проникливість капілярів [2]. Проте заявлений спосіб обумовлює одержання засобу з протизапальною та репаративною дією. Дослідження авторів розширюють загальновідомі дані про біологічно активні властивості хмелю, що дозволяє передбачити його використання у більш широкому колі лікувальних засобів.

Всі параметри заявленого способу визначені дослідним шляхом і не відомі з джерел інформації.

Експериментально встановлено, що при здійсненні заявленого способу використання в якості екстрагенту гарячої води при температурі не нижче 70°C забезпечує максимальне вилучення з сировини біологічно активних речовин.

Визначені дослідним шляхом такі ознаки, як екстрагування сировини десятикратною кількістю води, проведення екстракції принаймні у три етапи бажано тривалістю відповідно 2 години та по 0,5 години є необхідними і достатніми для здійснення заявленого способу і одержання кінцевого продукту з очікуваними видами активності. Кількість етапів екстракції може бути зменшена або збільшена, проте при цьому знижується економічна доцільність способу: у першому випадку збільшуються витрати сировини, у другому - зростають, енерговитрати та час здійснення способу. Проведення екстракції у 3 етапи є оптимальним варіантом.

Винахід здійснюють наступним чином. Подрібнені до розміру часток 2мм сухі шишки хмелю звичайного завантажують у реактор, додають у десятикратній кількості гарячу воду, температура якої не менше 70°C. Екстракцію проводять переважно у 3 етапи з тривалістю першого етапу 2 години, решти - по 0,5 години, одержані екстракти об'єднують, фільтрують та упарюють під вакуумом до одержання сухого залишку.

Одержаний сухий екстракт з шишок хмелю звичайного являє собою порошок темно-коричневого кольору зі специфічним запахом.

Вихід готового продукту - 15-16%

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

0,5 кг подрібненої сировини помістили у реактор з паровою рубашкою та мішалкою, залили водою 70°C у співвідношенні сировина : екстрагент 1:10 та екстрагували протягом 2 годин при періодичному перемішуванні, потім профільтрували. Другу та третю екстракції проводили за попередніх умов на протязі 0,5 години кожна. Одержані екстракти об'єднали і випарили у вакуумі при температурі 90-100°C до отримання сухого продукту. Одержали 80,02г готового продукту (16%).

Приклад 2

Протизапальну активність комплексу біологічно активних речовин з шишок хмелю (далі - Екстракт), одержаних за заявленим способом, вивчали на моделі карагенінового запалення у дозах 5мг/кг, 10мг/кг, 20мг/кг.

В якості препарату порівняння було використано альта́н.

Досліди проводили на щурах середньою масою 200г. Субплантарним введенням 1% розчину карагеніну у кількості 0,1мл викликали набряк однієї з лап у дослідних тварин. Тваринам дослідних груп за годину до ін'єкції карагеніну вводили внутрішньошлунково досліджуваній екстракт у різних дозах та альта́н у ефективній дозі. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість води.

Ступінь набряку оцінювали за збільшенням об'єму лапи, який виміряли у динаміці через 1, 2, 3, 24 години за допомогою механічного онкометра. Протизапальну активність (ПА) досліджуваних засобів визначали за їх здатністю зменшувати набряки у дослідних тварин у порівнянні з контролем. Розрахунок здійснювали за формулою:

$$ПА = \frac{\Delta V_d - \Delta V_k}{\Delta V_k} \cdot 100, \text{ де}$$

$\Delta V_d$ ,  $\Delta V_k$  - різниця між об'ємом набряклої та ненабряклої лапи тварини у досліді та контролі відповідно.

Дані експерименту наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення протизапальної активності комплексу біологічно активних речовин з шишок хмелю (Екстракт), одержаного за заявленим способом на моделі карагенінового запалення

Варіанти дослід- ду	Динаміка досліді							
	1 година		2 години		3 години		24 години	
	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %
Екстракт, 5мг/кг	8,8±0,39*	40	9,4±0,22*	55	10,4±0,68	60	14,4±0,44*	55
Екстракт, 10мг/кг	9,0±0,27*	38	11,0±0,41*	47	11,8±0,51*	55	15,2±0,65*	53
Екстракт, 20мг/кг	9,4±0,27*	36	11,2±0,62*	46	12,9±0,53*	50	16,2±0,60*	48
Альта́н, 1мг/кг	9,8±0,47*	33	13,4±0,27*	36	15,6±0,73*	40	16,0±0,89*	50
Контроль	14,6±0,49	-	20,8±0,47	-	26,0±0,57	-	32,0±0,93	-

\* - достовірно по відношенню до контролю  $p \leq 0,05$

Аналіз одержаних даних свідчить про виражену протизапальну активність Екстракту у всіх досліджених дозах, який достовірно знижував розвиток набряку у порівнянні з контрольною групою. Дані перших трьох годин досліджень доводять, що Екстракт за протизапальною активністю перевищує препарат порівняння.

#### Приклад 3

З метою одержання об'єктивної оцінки протизапальну активність комплексу біологічно активних речовин з шишок хмелю (Екстракту), одержаного за заявленим способом, вивчали також на моделі зимозанового набряку.

Дослід проводили на щурах масою 200 г. Набряк викликали субплантарним введенням в одну з лап тварин 2% суспензії зимозану у дозі 0,1мл. В якості препарату порівняння використовувати альтан. Тваринами дослідних груп за годину до ін'єкції зимозану вводили внутрішньошлунково Екстракт у дозах 5мг/кг, 10мг/кг, 20мг/кг та альтан відповідно. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість води. Протизапальну активність досліджуваних засобів (ПА) визначали за критеріями та розрахунками, аналогічними тим, що наведені у прикладі 2. Дані дослідів представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

Вивчення протизапальної активності комплексу біологічно активних речовин з шишок хмелю (Екстракту), одержаного за заявленим способом, на моделі зимозанового набряку

Варіанти дослідів	Динаміка дослідів							
	0,5 години		1 година		2 години		3 години	
	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %
Екстракт, 5мг/кг	8,00±0,36*	56	8,93±0,33*	59	10,2±0,74	65	12,6±0,49*	61
Екстракт, 10мг/кг	10,2±0,30*	44	10,6±0,42*	52	13,0±0,73*	55	15,0±0,57*	53
Екстракт, 20мг/кг	12,3±0,42*	32	13,2±0,60*	40	14,0±1,14*	52	13,8±0,60*	57
Альтан, 1мг/кг	12,2±0,79*	33	13,0±0,73*	41	15,8±0,54*	46	16,0±0,51*	50
Контроль	18,2±0,54	-	22,0±0,51	-	29,0±0,93	-	32,2±0,91	-

\* - достовірно по відношенню до контролю  $p \leq 0,05$ .

За даними дослідів Екстракт у всіх дозах проявив виражену протизапальну активність, достовірно, знижуючи розвиток набряку у порівнянні з контролем у дозах 5мг/кг, 10мг/кг на 1 та 2 годину дослідів, а на 2-3 години дослідів - у всіх вивчених дозах Екстракт перевершує за протизапальною активністю препарат порівняння.

#### Приклад 4

Вивчення репаративної активності комплексу біологічно активних речовин, (далі Екстракт), одержаних з шишок хмелю за заявленим способом, проводили на моделі лінійних різаних ран у щурів. Дослідним щурам у наркотичному стані наносили лінійні рани, на які накладали шви. Після виходу з наркозу тварини дослідних груп одержували перорально Екстракт у дозах 5мг/кг, 10мг/кг та препарат порівняння альтан у ефективній дозі. Лікування тривало 5 днів. Тварини дослідної групи залишалися нелакованими. Після виведення тварин з дослідів було проведено дослідження міцності зростання країв рани на ранотензиометрі. Для

цього зразок клаптику шкіри зі швом затискували з одного краю шва, а з іншого краю закріплювали ємність для води в якості навантаження. При рівномірному наливанні води відмічали її об'єм, при якому шов розривається. Міцність шва відповідає об'єму води, що обумовлює розрив шва.

Репаративну активність (РА) досліджуваних засобів розраховували за формулою:

$$РА = (\Delta V_d \cdot 100\%) / \Delta V_k \cdot 100, \text{ де}$$

$\Delta V_d$ ,  $\Delta V_k$  - об'єм води, при якому розривається шов відповідно на зразках з дослідної та контрольної групи.

Досліджували також показники білкового обміну як фактори, що визначають швидкість репаративної регенерації: вміст загального білка у сироватці крові за біуретовою реакцією та концентрацію РНК і ДНК у гомогенаті шкірної рани щурів за спектрофотометричним методом при реакції з хлорною кислотою.

Результати досліджень наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

Умови досліджу	Показники тензиометрії, (об'єм води), г	Репаративна активність, %	Загальний білок, г/л	ДНК, мкг/мл	РНК, мкг/мл
Контроль	474,16±21,77	-	72,88±2,94	21,13±2,66	23,77±1,22
Екстракт, 5мг/кг	840,83±44,44*	77	87,53±3,75*	33,01±1,82*	31,35±1,67*
Екстракт, 10мг/кг	766,67±44,95*	62	90,52±5,36*	25,11±1,62	29,17±1,29*
Альтан, 1мг/кг	661,96±55,0*	40	84,63±3,15*	24,18±2,31	30,2±11,6*

\* - достовірно по відношенню до контролю  $p \leq 0,05$ .

Аналіз даних табл. 3 свідчать про наявність вираженої репаративної активності Екстракту, одержаного за заявленим способом, що перевищує препарат порівняння.

Таким чином, заявлено спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною та репаративною активністю з шишок хмелю звичайного. Заявлений спосіб є простим у виконанні, економічним, екологічно чистим, має достатню вітчизняну сировинну базу і може бути здійснений як у лабораторних, так і у виробничих умовах на стандартному обладнанні, відзначається практичною нетоксичністю, має виражену про-

тизапальну та репаративну активність і може бути використаний в якості лікарської субстанції у складі препаратів різних лікарських форм.

Джерела інформації:

1. Е.И. Светличная, И.А. Толок. Этимологический словарь латинских ботанических названий лекарственных растений. Харьков. Издательство НФаУ, «Золотые страницы», 2003, С. 125.

2. Б.А. Самура, В.Ф. Черных, И.П. Банний и др. Фитотерапия в клинике внутренних болезней. Харьков. Издательство НФаУ, «Золотые страницы», 2003, С. 25, С. 350.