



УКРАЇНА

(19) UA (11) 85926 (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 ВІНАХІД

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

1

(21) а200706252
(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-
ТОЛІВНА, UA, ЄФРЕМЕНКО ЕДУАРД АНАТОЛІ-
ЙОВИЧ, UA
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ, UA
(56) SU A393833, 10.08.1973.
SU A611926, 25.06.1978.
RU 2241484, 10.12.2004.
UA U 14493, 15.05.2006.
UA U 15750, 17.07.2006.
UA C2 35409, 15.12.2003.

2

UA A42159, 15.10.2001.
(57) 1. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною та антиокси-
дантною активністю, що включає екстракцію гаря-
чою водою хмелю звичайного та фільтрацію, який **відрізняється** тим, що екстракції піддають листя
хмелю звичайного, екстракцію здійснюють шести-
кратною кількістю води 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
перший етап екстракції здійснюють принаймні
протягом двох годин, а тривалість кожного
наступного етапу дорівнює чверті цього періоду.
3. Спосіб за п. 1, п. 2, який **відрізняється** тим, що
екстракцію здійснюють при температурі води не
менше 70°C.

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

Досить великий перелік засобів рослинного походження одержують шляхом водної екстракції листя лікарських рослин.

Відомий, наприклад, спосіб одержання комплексу полісахаридів про-тиалергічної дії [Пат. 24032, Україна, МПК 6 A61K 35/78 3.95125519, заявл. 28.12.95, опубл. 31.08.98 Бюл. №4]. Зазначений спосіб здійснюють шляхом екстракції листя смородини чорної водою 90°C при співвідношенні сировина: екстрагент 1:5-6, упарювання одержаного екстракту до 1/7 попереднього об'єму, осадження комплексу біологічно активних речовин [БАР] чотирикратною кількістю етилового спирту, відокремлення осаду з наступною його сушкою і подрі-

бненням. Вихід готового продукту 13-14% від повітряно сухої сировини.

Недоліками відомого способу можна вважати необхідність додаткового використання спирту етилового для осадження БАР та невисокий вихід готового продукту.

У фітотерапії ряду захворювань часто використовують хміль як лікарську сировину. Виражені седативні властивості хмелю обумовили його введення до складу відомих лікарських препаратів: уролесан, валокордин, корвалдін [1]. Хміль також використовують у народній медицині.

Традиційно для одержання лікувальних засобів використовують лише шишки хмелю.

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 1л води, кип'ятять на водяній бані протягом 15 хвилин, охолоджують 5 хвилин і проціджують. Одержаний водний настій вживають по 200мл тричі на день.

(13) C2

(11) 85926

(19) UA

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 антиоксидантною активністю шляхом екстрагування нетрадиційної лікарської сировини - листя хмелю звичайного, що у сукупності з заявленими параметрами нового способу обумовлює одержання з високим виходом 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 антиоксидантною активністю, що включає екстракцію гарячою водою хмелю звичайного та фільтрацію, винаходом передбачено, що екстракції піддають листя хмелю звичайного, екстракцію здійснюють десятикратною кількістю води принаймні у 3 етапи з подальшим об'єднанням одержаних екстрактів, упарюванням і сушкою.

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

Винаходом також передбачено, що екстракцію здійснюють при температурі води на менше 70°C.

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

Авторами вперше запропоновано використання такого нетрадиційного виду лікарської сировини, як листя хмелю звичайного.

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 шестикратною 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.

Винахід здійснюють наступним чином. Подрібнене до розміру часток 2мм сухе листя хмелю звичайного завантажують у реактор, додають 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 із листя хмелю звичайного являє собою порошок коричневого кольору з характерним запахом.

Вихід готового продукту - 29-30%

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

0,5кг подрібненої сировини помістили у реактор з паровою рубашкою та мішалкою, залили водою 70°C у співвідношенні сировина : розчинник 1:6 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 146,88г готового продукту (29,38%).

Приклад 2

Протизапальну активність комплексу біологічно активних речовин (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 альтан.

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 досліджуваний екстракт у різних дозах та альтан 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:

$$ПА = \frac{\Delta V_D - \Delta V_K}{\Delta V_K} \cdot 100, \text{ де}$$

ΔV_D , ΔV_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 (Екстракту), одержаного за заявленим способом на моделі карагенінового запалення

Варіанти досліджу	Динаміка досліджу							
	1 година		2 години		3 години		24 години	
	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %
Екстракт, 5мг/кг	8,0±0,57*	45	9,4±1,15*	55	10,4±0,68	60	13,6±0,91*	58
Екстракт, 10мг/кг	8,8±1,04*	40	10,5±0,50*	50	11,8±0,60*	55	16,0±0,85*	50
Екстракт, 20мг/кг	9,4±1,17*	36	11,4±0,93*	45	12,8±0,68*	51	16,8±0,60*	48
Альтан, 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±0,45	-	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 в усіх досліджених дозах, який достовірно знижував розвиток набряку у порівнянні з контрольною групою. Найбільш виражена протизапальна активність Екстракту зафіксована у дозі 5мг/кг на третю годину дослідження.

За протизапальною активністю Екстракт, одержаний за заявленим способом, перевищує препарат порівняння.

Приклад 3

З метою одержання об'єктивної оцінки протизапальну активність комплексу біологічно активних речовин (Екстракту), одержаного за заявленим

способом, вивчали також на моделі зимозанового набряку.

Дослід проводили на щурах масою 200г. Набряк викликали субпланта-рним 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 досліджу представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

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

Варіанти досліджу	Динаміка досліджу							
	0,5 години		1 година		2 години		3 години	
	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %	Об'єм	ПА, %
Екстракт, 5мг/кг	8,4±0,68*	54	9,0±0,31*	59	10,6±0,67	63	9,8±0,37*	70
Екстракт, 10мг/кг	10,0±0,55*	45	11,0±0,41*	50	13,0±0,73*	55	14,2±1,56*	60
Екстракт, 20мг/кг	12,6±0,98*	31	13,2±0,60*	40	14,2±0,66*	51	14,8±0,54*	54
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 досліджу Екстракт у всіх дозах проявив виражену протизапальну активність, достовірно, знижуючи розвиток набряку у порівнянні з контролем. У дозі 5мг/кг на 3 годину досліджу Екстракт за протизапальною активністю перевищує препарат порівняння.

Приклад 4

Антиоксиданту активність комплексу біологічно активних речовин (Екстракту), одержаного за заявленим способом, вивчали на моделі гострого тетраклорметанового ураження печінки токсичного гепатиту дослідних тварин.

Дослід проводили на щурах масою 200г. Патологію моделювали одноразовим внутрішньо-

шлунковим введенням 50% олійного розчину тетрахлор-метану. Досліджуваний Екстракт у дозах 5мг/кг, 10мг/кг та препарат порівняння силібор вводили тваринам дослідним груп за годину і через 2 години після введення тетрахлорметану.

Антиоксидантну активність (АА) досліджуваних засобів оцінювали за їх впливом на процеси пере-

кісного окислення ліпідів і розраховували за формулою:

$$AA=100 \cdot (1-C/C_0), \text{ де}$$

C, C₀ - вміст ТБК реактантів у сироватці крові тварин дослідної та контрольної груп відповідно.

Дані експерименту наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

Показники	Інтакт	Контрольна патологія	Екстракт, 5мг/кг	Екстракт, 10мг/кг	Силібор, 25мг/кг
У сироватці крові					
ТБК-реактанти, мкмоль/%	34,6±0,16*	92,17±0,33*	55,76±0,38**	59,48±0,44**	68,5±0,33/**
Антиоксидантна активність, %			39	35	25

* - достовірно по відношенню до груп контрольної патології $p \leq 0,05$

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

Дані табл. 3 свідчать про достовірну антиоксидантну активність Екстракту, яка у вивчених дозах перевищує дію препарату порівняння.

Таким чином, заявлено спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною та антиоксидантною активністю з листя 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. Спосіб забезпечує високий, економічно вигідний вихід кінцевого продукту. Останній відзначається практичною нетоксичністю, має виражену протизапальну і

антиоксидантну активність, вищу за активність препаратів порівняння. Комплекс біологічно активних речовин, одержаний за заявленим способом, 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.