



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **86502** (13) **C2**  
(51) **МПК (2009)****A61K 36/899** (2006.01)**A61K 127/00** (2006.01)**A61P 7/10** (2009.01)**A61P 11/02** (2009.01)**A61P 17/08** (2009.01)**A61P 39/06** (2009.01)**A61P 43/00**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

### ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

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

1

**(21)** а200708446**(22)** 23.07.2007**(24)** 27.04.2009**(46)** 27.04.2009, Бюл.№ 8, 2009 р.**(72)** КОВАЛЬОВ ВОЛОДИМИР МИКОЛАЙОВИЧ,  
УА, МАЛОШТАН ЛЮДМИЛА МИКОЛАЇВНА, УА,  
СУБОТА НІНА ПАВЛІВНА, УА, КОНОНЕНКО АЛЕ-  
ВТИНА ГЕННАДІЇВНА, УА, ТКАЧЕНКО МАРІЯ ФЕ-  
ДОРІВНА, УА**(73)** НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ, УА**(56)** UA U 14493, 15.05.2006.

UA C2 77795, 15.01.2007.

UA U 22983, 24.04.2007.

UA C2 79873, 25.07.2007.

UA A 66635, 15.05.2004.

2

UA A 66162, 15.04.2004.

RU C1 2004248, 15.12.1993.

RU C1 2140789, 10.11.1999.

**(57)** Спосіб одержання комплексу біологічно акти-  
вних речовин з антиоксидантною та протизапаль-  
ною дією шляхом неодноразової екстракції рос-  
линної сировини гарячою водою з подальшим  
упарюванням досуха одержаного сумарного екст-  
ракту, який **відрізняється** тим, що як рослинну  
сировину використовують листя кукурудзи, краще  
природного ендоспермального мутанта цукрової  
кукурудзи з носієм гена Su-1, екстракцію здійсню-  
ють у два етапи при сумарному співвідношенні  
сировини до екстрагенту 1:20, причому на першо-  
му етапі це співвідношення становить 1:12, а на  
другому - 1:8.

Винахід відноситься до фармації, а саме до способів одержання комплексів біологічно активних речовин з рослинної сировини з подальшим їх використанням в якості лікарських субстанцій при створенні препаратів у різних лікарських формах.

Сучасний арсенал лікарських засобів з антиоксидантною та протизапальною дією представлений, насамперед, засобами синтетичного походження, які здебільшого мають негативну побічну дію. Альтернативним рішенням є створення конкурентоспроможних лікарських засобів рослинного походження з практичною відсутністю негативних побічних ефектів.

Відомий спосіб одержання засобу у формі рідкого екстракту з протизапальною та анаболічною активністю [Деклараційний патент на корисну модель №14493, Україна, МПК(2006) A61K 36/61, A61K 127/00, A61K 9/14, з.№200511277, заявл. 28.11.2005, опубл. 15.06.2006, Бюл. №5] шляхом екстракції листя евкаліпту водою при співвідно-

шенні сировини до екстрагенту як 1:3-1:9 при температурі 90-100°C протягом 1,5-2 годин з подальшим настоюванням протягом 11-12 годин, фільтрацією та упарюванням одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищенням шляхом відстоювання надосадової рідини, яку піддають стерилізації.

Кінцевий продукт, одержаний за таким способом, не проявляє антиоксидантної активності. До недоліків відомого способу можна віднести використання рослинної сировини, яка не культивується в Україні.

Відомий також спосіб отримання комплексу біологічно активних речовин у формі сухого екстракту з противіразковою, протизапальною та мембраностабілізуючою дією [Патент на винахід 77795, Україна, МПК(2006) A61/185, A61P 1/04, A61P 29/00, A61P 39/00, з.№20041109603, Заявл. 22.11.2004, опубл. 15.01.2007, Бюл. №1] шляхом триразової екстракції листя ліщини звичайної або

(13) **C2**(11) **86502**(19) **UA**

грабу звичайного, або їх суміші водою при температурі 50-60°C при співвідношенні сировини до екстрагенту (1:10) - (1:15) протягом 4-5 годин.

Наведений спосіб не забезпечує одержання засобу з необхідною антиоксидантною дією.

Завданням винаходу є створення способу одержання комплексу біологічно активних речовин шляхом екстрагування листя кукурудзи гарячою водою при заданих параметрах способу, в результаті чого одержують біологічно активну субстанцію у формі сухого екстракту з антиоксидантною та протизапальною дією, яка може бути використана як діюча речовина у складі лікарських засобів, виконаних у різних лікарських формах і придатних до тривалого застосування внаслідок м'якої дії, практичної нетоксичності і відсутності побічних ефектів у засобів рослинного походження.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з антиоксидантною та протизапальною дією шляхом неодноразової екстракції рослинної сировини гарячою водою з подальшим упарюванням досуху одержаного сумарного екстракту, винаходом передбачено, що в якості рослинної сировини використовують листя кукурудзи, краще природного ендоспермального мутанту цукрової кукурудзи з носієм гену Su-1, екстракцію здійснюють у два етапи при сумарному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:20, причому на першому етапі це співвідношення становить 1:12, а на другому - 1:8.

Заявлений спосіб передбачає використання в якості рослинної сировини листя кукурудзи. В народній та офіційній медицині відомі дані про використання стовпчиків з приймочками кукурудзи в якості сечогінного, жовчогінного та гемостатичного засобу. Жовчогінну дію проявляє також кукурудзяна олія [Современная фитотерапия. Под ред. В.Петкова. София, 1988, «Медицина и физкультура» С. 278-280].

Використання листків кукурудзи як лікарської сировини для одержання лікувальних засобів, зокрема, з антиоксидантною та протизапальною дією є невідомим з джерел інформації та неочевидним.

У ході експериментів були досліджені комплекси біологічно активних речовин, одержаних за заявленим способом, з листя кукурудзи різних сортів. За рівнем антиоксидантної та протизапальної активності одержаного продукту кращим виявився природний ендоспермальний мутант цукрової кукурудзи з носієм гену Su-1. Цей сорт пристосований для вирощування в Україні і є достатнім джерелом сировини для здійснення заявленого способу.

Заявлений спосіб передбачає використання листя кукурудзи у період молочно-воскової та воскової стиглості зернівок, що дозволяє одержувати дешево і доступну сировину під час збору врожаю.

Експериментальним шляхом було визначено, що оптимальним екстрагентом для одержання комплексу біологічно активних сполук антиоксидантної та протизапальної дії з вибраної сировини є гаряча вода, краще при  $t=90^{\circ}\text{C}$ . Цей екстрагент також вигідний з боку технологічних вимог до здійснення способу, бо є доступним, дешевим та екологічно безпечним.

Сумарне співвідношення сировини до екстрагенту 1:20 знайдено експериментально і є оптимальним для вибраної сировини.

На першому етапі екстракції це співвідношення становить 1:12 (враховується поглинання частини екстрагента сировиною), а на другому - 1:8. Менша кількість екстрагенту на кожному з етапів не дозволяє ефективно провести екстракцію і створює труднощі технологічного характеру при обробці великої кількості сировини малим обсягом розчинника (закупорка зливної горловини тощо). Більша кількість екстрагенту є нерациональною, тому що необхідна екстракція досягається заявленою кількістю екстрагенту. Збільшення останнього веде до зниження концентрації екстракту і, як наслідок, до збільшення енергетичних втрат і часу на упарювання та висушування екстракту.

Використання сполучення нетрадиційного виду рослинної сировини і усіх параметрів заявленого способу дозволяє одержати цільовий продукт - комплекс біологічно активних сполук, який має антиоксидантну та протизапальну активність.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином.

Зібране у період молочно-воскової та воскової стиглості зернівок висушене і подрібнене до часток розміром 3-5мм листя кукурудзи завантажують у реактор з мішалкою і паровою сорочкою, заливають гарячою водою 90°C у співвідношенні сировина: екстрагент 1:12. Екстракцію проводять на протязі 2 годин при перемішуванні і постійно витриманій температурі - 90°C. Для найбільш повного вилучення комплексу біологічно активних сполук антиоксидантної та протизапальної дії одну й ту ж порцію сировини піддають екстракції двічі. При другій екстракції відношення сировини до екстрагенту становить 1:8. Одержані зливи з'єднують і упарюють на вакуумно-випарювальному апараті до повного висушування. Сухий екстракт подрібнюють. Готовий продукт являє собою брунатний або темно-брунатний гігроскопічний порошок без запаху, гіркуватого смаку, який містить комплекс біологічно активних сполук і має антиоксидантну та протизапальну активність. Вихід готового продукту становить 28,5-30,5% від повітряно-сухої сировини.

Заявлений спосіб ілюструється наступними прикладами.

#### Приклад 1

2,0кг подрібненого повітряно-сухого листя кукурудзи з носієм гену Su-1 завантажують у реактор з мішалкою і паровою сорочкою, заливають 24л гарячої води 90°C. Екстракцію повторюють, додаючи 18л гарячої води. Одержані екстракти, 21,5л і 22,0л відповідно, об'єднують і упарюють на вакуумно-випарювальному апараті до повного висушування. Сухий екстракт подрібнюють. Вихід цільового продукту 608,0г, тобто 30,4% від початкової кількості повітряно-сухої сировини (2,0кг).

#### Приклад 2

Вивчення антиоксидантних властивостей комплексу біологічно активних речовин (БАР), одержаних за заявленим способом, проводили на білих щурах масою 200-220г в умовах гострого тетралорметанового гепатиту, провідною патогенетичною ланкою якого є інтенсифікація процесів пере-

кисного окислення ліпідів (ПОЛ). Дослідження проведене у порівнянні з антиоксидантом вітаміном Е у дозі 50мг/кг і гепатопротектором силібором у дозі 50мг/кг. Дослідні тварини одержували перорально водний розчин комплексу БАР у дозах 20мг/кг та 30мг/кг і референс-препарати, а тварини інтактного контролю - еквівалентну кількість води. Через 1 годину тваринам дослідних груп і групи контрольної патології вводили внутрішньошлунково 50% олійний розчин тетрахлорметану з розрахунку 0,4мл на 100г маси. На третій день тварин наркотизували і виводили з експерименту. Потім

виділяли у них печінку і зважували її для розрахунку показника гемодинаміки органу - масового коефіцієнту печінки (МКП). Інтенсифікацію вільнорадикальних процесів у печінці оцінювали за вмістом у гомогенаті органу продуктів ПОЛ: дієнових кон'югантів (ДК) та ТБК-реактивів. Ступінь антиоксидантного захисту вивчали за рівнем відновленого глутатіону (GSH).

Результати дослідження антиоксидантної дії досліджуваного комплексу БАР представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Вивчення антиоксидантної дії БАР, одержаного за заявленим способом, у порівнянні з силібором та вітаміном Е

Умови досліджу	Доза мг/кг	n	МКП	GSH, ум. од.	ДК, мкмоль/г	ТБК, мкмоль/г
Інтактний контроль	-	6	3,55±0,09	22,16±4,41	32,27±5,24	87,61±34,95
Контрольна патологія	-	6	4,22±0,16	65,46±13,94	33,37±1,80	161,11±11,17
Вітамін Е	50	6	4,07±0,12*	55,25±11,29*	31,44±2,13	58,55±9,72*
Силібор	50	6	4,16±0,11*	42,49±12,23*	29,58±2,05	72,22±10,96*
Комплекс БАР	20	6	3,98±0,13*	46,86±10,94	36,67±6,49	82,90±5,99*
	30	6	4,48±0,11*	39,20±9,35*	28,60±1,76*	47,86±13,03*

Примітки:

\* - відхилення показника достовірно стосовно групи контрольної патології (P<0,05);

n - кількість тварин у групі.

Як показали результати дослідження на тлі контрольної патології зростають проміжні та кінцеві продукти ПОЛ в 2-3 рази у порівнянні з інтактним контролем.

Досліджуваний комплекс БАР у дозі 30мг/кг виявив найбільш виражену антиоксидантну активність, а саме, вірогідно знижував рівень CSH (39,20±9,35), ДК (28,60±1,76) та ТБК-реактивів (47,86±13,03) у порівнянні з контролем та наближував до норми продукти ПОЛ. Референс-препарати (вітамін Е та силібор) також проявляли антиоксидантні властивості та вірогідно знижували продукти ПОЛ у мембрані гепатитів, але поступалися за активністю досліджуваному комплексу БАР, особливо за ТБК-реактивними в 1,5 рази. Таким чином, можливо зробити висновок, що зазначений комплекс БАР у дозі 30мг/кг на тлі гост-

рого тетрахлорметанового гепатиту виявляє виражену антиоксидантну активність.

Приклад 3

Вивчення протизапальної дії комплексу БАР, одержаного за заявленим способом, проводили на моделі зимозанового набряку у дослідних тварин.

Досліди проводили в умовах in vivo на безпородних щурах 180-200г та нелінійних мишах масою 18-22г. Набряк викликали субплантарним введенням 2% суспензії зимозану в кількості 0,1мл через 1 годину після перорального введення досліджуваного комплексу БАР та препаратів порівняння вольтарену та альтаму. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму лапи дослідних тварин, який вимірювали у динаміці до та через 0,5; 1; 2 і 3 години після введення флогену за допомогою механічного онкометру. Активність досліджуваних речовин визначали за здатністю зменшувати набряки у піддослідних тварин у порівнянні з контрольними. Дані дослідів наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Вивчення протизапальної активності комплексу БАР за заявленим способом на моделі зимозанового набряку у щурів у порівнянні з вольтареном та альтаном

Умови досліджу		Години розвитку запалення			
		0,5 год	1 год	2 год	3 год
Контрольна патологія	$\Delta V$ , ум. од.	18,60±0,76	21,80±0,96	25,00±0,76	27,20±0,96
Комплекс БАР, 20мг/кг	$\Delta V$ , ум. од.	15,60±1,53	17,20±0,96*	18,00±0,57*	18,80±0,57*
	Активність, %	16,13	21,10	28,00	30,90
Комплекс БАР, 30мг/кг	$\Delta V$ , ум. од.	15,20±2,11	15,40±1,92*	15,40±1,53*	15,00±0,96*
	Активність, %	18,28	29,36	38,40	44,85
Вольтарен, 8мг/кг	$\Delta V$ , ум. од.	16,00±0,38	18,80±0,9*	19,60±1,15*	20,60±1,15*
	Активність, %	13,98	13,76	21,60	32,04
Альтан, 1мг/кг	$\Delta V$ , ум. од.	15,2±1,15*	17,4±0,76*	19,6±0,96*	20,2±1,15*
	Активність, %	18,28	20,18	21,60	25,74

Примітка:  $\Delta V$  - відносне збільшення величини набряку

\* - відхилення показника достовірно стосовно групи контрольної патології ( $P < 0,05$ )

В результаті дослідження було встановлено, що найбільш виражену протизапальну дію на моделі зимозанового набряку досліджуваний комплекс БАР виявив у дозі 30мг/кг на третій годині розвитку набряку, де було зафіксоване вірогідне зменшення набряку (44,85%) у порівнянні з контролем. Референс-препарати (вольтарен та альтан) виявили менш виражену активність (24,26% та 25,74% відповідно) на даній моделі запалення на третій годині розвитку набряку та поступалися за активністю комплексу БАР у дозі 30мг/кг.

Таким чином, заявлено новий спосіб одержан-

ня комплексу біологічно активних речовин з вираженою антиоксидантною та протизапальною дією, який відзначається рядом переваг:

- простота виконання та можливість здійснення на стандартному обладнанні у промислових умовах України;

- доступність, екологічна безпечність та низька собівартість обраного екстрагенту - води;

- використання дешевої вітчизняної сировини (листя кукурудзи), яку заготовлюють під час збору врожаю;

- наявність вираженої антиоксидантної і протизапальної дії та нетоксичність комплексу БАР, одержаного за заявленим способом;

- перспективність одержаного комплексу БАР як лікарської субстанції для одержання препаратів у різних лікарських формах.