



УКРАЇНА

(19) UA (11) 91287 (13) C2
(51) МПК (2009)
A61K 36/736 (2006.01)
B01D 11/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА АНТИОКСИДАНТНОЮ ДІЄЮ

1

(21) а200814478

(22) 15.12.2008

(24) 12.07.2010

(46) 12.07.2010, Бюл.№ 13, 2010 р.

(72) КИСЛИЧЕНКО ВІКТОРІЯ СЕРГІЇВНА, УПИР
ЛАРИСА ВОЛОДИМИРІВНА, ПУЗАК ОЛЬГА АНА-
ТОЛІЇВНА, ВОРОНІНА ЛАРИСА ВОЛОДИМИРІВ-
НА, КРАВЧЕНКО ГАННА БОРИСІВНА, ФАЙЗУЛ-
ЛІН ОЛЕКСАНДР ВАЛЕРІЙОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ

(56) UA, 15750, U, 17.07.2006

UA, 79383, C2, 11.06.2007

RU, 2146938, C1, 27.03.2000

US, 20030124204, A1, 03.07.2003

2

GB, 1142191, A, 05.02.1969

KR, 100864915, B1, 23.10.2008

(57) Спосіб одержання засобу з протизапальною та антиоксидантною дією шляхом екстракції рослинної сировини гарячою водою з подальшим настоюванням, фільтрацією та упарюванням одержаного екстракту, який відрізняється тим, що екстракції піддають листя абрикоса звичайного *Armeniaca vulgaris* Lam. при співвідношенні сировини та екстрагенту 1:10-1:11, одержаний екстракт настоюють 0,5 години, а рідкий фільтрат упарюють до кількості продукту, що дорівнює масі екстрагрованої сировини у співвідношенні 1:1, з наступним сушінням під вакуумом до повітряно сухого стану.

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до одержання біологічно активних засобів рослинного походження з протизапальною та антиоксидантною активністю з листя абрикосу.

Відомий спосіб одержання суми полісахаридів з протизапальною активністю [1] з василька синього або його шроту після виділення суми флавоноїдів, що включає екстракцію рослинної сировини гарячою водою при температурі 95°C, при співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:15-1:20, протягом 40-50 хвилин. На завершальній стадії екстракції рідкий екстракт відокремлюють від твердої фази (сировини) шляхом центрифугування. Одержаний екстракт згущують під вакуумом, упарюють, осаджують 96% спиртом етиловим та фільтрують на центрифугу. Відокремлений продукт промивають 96% спиртом етиловим і сушать.

До недоліків відомого способу можна віднести його багатостадійність, додаткові витрати спирту етилового.

Відомий також спосіб одержання засобу з протизапальною та анаболічною активністю [2], прийнятий за прототип.

Зазначений спосіб полягає у екстракції листя або шроту евкаліпту після виділення гідрофобної фракції гарячою водою при температурі 90-100°C, при співвідношенні 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 та відокремлення надосадної рідини, яку піддають стерилізації.

До недоліків відомого способу можна віднести тривалий час настоювання, введення додаткової стадії стерилізації, використання імпоротної рослинної сировини.

Завданням винаходу є створення способу одержання засобу рослинного походження з протизапальною та антиоксидантною активністю, який передбачає використання нетрадиційної рослинної сировини - листя абрикосу - при наявності достатньої вітчизняної сировинної бази, скорочення тривалості процесу за рахунок оптимізації часу настоювання, що дозволяє одержати зручний у використанні та зберіганні засіб у формі сухого екстракту з вираженою фармакологічною активністю та промислово доцільним виходом готового продукту.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з протизапальною та антиоксидантною дією шляхом екстракції рослинної сировини гарячою водою протягом при-

(19) UA (11) 91287 (13) C2

наймні двох годин з подальшим настоюванням, фільтрацією та упарюванням одержаного екстракту, винаходом передбачено, що екстракції підлягають листя абрикосу звичайного *Armeniaca vulgaris* Lam. при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10-1:11, одержаний екстракт настоюють 0,5 години, а рідкий фільтрат упарюють до вихідного об'єму екстрагованої сировини з наступною сушкою під вакуумом до порівняно сухого стану.

Дослідження довели, що листя абрикосу є рослинною сировиною з багатим вмістом біологічно активних речовин: полісахаридів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин. Авторами було виконано пошук рослин з достатньою сировинною базою, які здавна використовуються в народній медицині і встановлено, що переробка цієї сировини у відповідності з заявленим способом, дозволяє одержати засіб з вираженою протизапальною та антиоксидантною активністю, і високим виходом продукту.

Заявлений спосіб дає можливість виключити використання дефіцитних розчинників (етанолу, хлористого метилу), стадію очищення екстракту від ліпофільних речовин, передбачає використання доступної рослинної сировини - листя абрикосу, який широко культивується в Україні. Використання даного способу дозволяє розширити асортимент лікарських засобів, значно спростити і здешевити технологію отримання кінцевого продукту.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом і відповідають оптимальним умовам здійснення способу.

Згідно з винаходом співвідношення сировини до екстрагенту є оптимальним у межах 1:10-1:11. При цьому, якщо співвідношення менше 1:10, то не забезпечується достатня екстракція біологічно активних речовин (БАР), що призводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Співвідношення більше за 1:11 веде до подовження технологічного процесу, час упарювання та пов'язані з цим енерговитрати значно зростають. Співвідношення 1:10-1:11 забезпечує достатню екстракцію БАР при мінімальному часі фільтрації та упарювання.

Згідно з заявленим способом екстракцію проводять при температурі 90-100°C протягом 2 годин з подальшим настоюванням протягом 0,5 години. Температура 90-100°C є оптимальною, тому що забезпечує максимальну екстракцію водорозчинних сполук. Настоювання протягом 0,5 години є достатнім для екстракції з листя абрикосу комплексу БАР для забезпечення протизапальної та антиоксидантної дії. Упарювання проводять до кількості продукту, що дорівнює масі екстрагованої сировини у співвідношенні 1:1. При подальшому упарюванні залишок має більшу в'язкість, зменшується його плинність, що ускладнює роботу з екстрактом та збільшує його втрати у процесі виробництва. При менш тривалому упарюванні значно подовжується процес сушіння та збільшуються енерговитрати.

Заявлений спосіб забезпечує отримання засобу у формі сухого екстракту листя абрикосу у вигляді мілкого порошку, зручного у подальшому використанні у виробництві.

Заявлений спосіб здійснюють шляхом екстракції гарячою водою подрібненого листя абрикосу при співвідношенні сировини до екстрагента як 1:10-1:11, при температурі 90-100° протягом двох годин з подальшим настоюванням протягом 0,5 години, фільтрацією та упарюванням одержаного витягу до кількості продукту, що дорівнює масі екстрагованої сировини у співвідношенні 1:1. Одержаний на цій стадії фільтрат являє собою прозору рідину темно-коричневого кольору зі специфічним запахом. Далі зазначену рідину упарюють до одержання сухого продукту. Вихід готового продукту 16%. Одержаний сухий екстракт - гігроскопічний порошок від жовто-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом. Отриманий за заявленим способом готовий екстракт містить не менше ніж 8% полісахаридів, 7% фенольних сполук, 2% флавоноїдів у перерахунку на рутин, гідроксикоричних кислот - 0,8%).

Сукупність ознак заявленого способу є новою, не відомою з джерел інформації.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1. 1кг подрібненого до 1-3мм листя абрикосу звичайного (*Armeniaca vulgaris* Lam.), заливали 10 літрами гарячої води (90°C) у співвідношенні сировина:екстрагент 1:10, екстрагували протягом двох годин при температурі 90°C при безперервному перемішуванні. Настоювали протягом 0,5 години без нагрівання, сировину відфільтровували. Рідкий витяг упарювали під вакуумом при розрядженні 10⁻² мм рт.ст., після чого сушили у вакуум-сушільній шафі при 10⁻² мм рт.ст. Отримали 160г порошку. Вихід готового продукту складає 16% по відношенню до вихідної сировини.

Отриманий за заявленим способом засіб являє собою аморфний сипкий порошок жовто-коричневого кольору зі специфічним запахом, легко розчинний у воді, практично не розчинний у діетиловому етері, хлороформі, етанолі. Екстракт містить 8,40% полісахаридів, 13,11% фенольних сполук, 5,57% флавоноїдів у перерахунку на рутин, гідроксикоричних кислот - 0,83%.

Приклад 2. Протизапальну активність засобу, одержаного за заявленим способом, вивчали на моделі карагенінового набряку. Гострий карагеніновий набряк викликали у щурів лінії Vistar масою 180-200г шляхом субплантарного введення під апоневроз задньої кінцівки 0,1мл 1% розчину карагеніну. Піддослідні тварини отримували досліджувані засіб перорально у формі водного розчину у дозах 10, 25 та 50мг/кг за 1 годину до ін'єкції флогену. Тваринам контрольної групи вводили еквівалентну кількість розчинника. Ступінь розвитку запалення оцінювали за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який визначали за допомогою механічного онкометра за Захар'євським А.С. на третій годині експерименту (піковий момент розвитку запальної реакції).

Протизапальну активність досліджуваного засобу визначали за ступенем зменшення набряку кінцівок у дослідних тварин та тварин контрольної групи за наступною формулою:

$$A = \frac{P_k - P_d}{P_k} \times 100\%,$$

A - протизапальна активність, %;
 R_k - середня різниця в об'ємі набряклої та не набряклої кінцівки у контролі;
 R_d - середня різниця в об'ємі набряклої та не

набряклої кінцівки у піддослідній групі.

Дані про протизапальну активність наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Протизапальна активність засобу, одержаного за заявленим способом

Показник	Контроль	Досліджуваний засіб		
		10мг/кг	25мг/кг	50мг/кг
Величина набряку (у.о.)	8,20±1,46	6,80±1,00	5,00±0,55*	5,40±0,51*
Протизапальна активність (%)	-	17,1	39,0	34,1

Примітка: * - розбіжність статистично достовірна відносно контролю ($p < 0,05$)

Аналіз отриманих даних, наведених у таблиці 1, свідчить про наявність протизапальної активності у засобу, одержаного за заявленим способом.

Досліджуваний засіб проявляє максимальний ефект у дозі 25мг/кг, зменшуючи набряк на 39,0%.

Приклад 3. Антиоксидантну активність засобу, одержаного за заявленим способом, вивчали у дослідках *in vitro* на моделі аскорбатіндукованого пригнічення перекисного окислення ліпідів (ПОЛ).

В якості препарату порівняння було обрано вітамін Е (α -токоферол).

До 25%-го гомогенату печінки, приготовленого на 100мМ Tris-HCl-буфері, додавали відповідно

досліджуваний засіб та препарат порівняння у кількості 50мг/мл (крім контролю). Інкубацію проводили при 37°C при постійному струшуванні на водяному термостаті протягом 5, 10 та 15 хвилин. Реакцію припиняли шляхом додавання до інкубаційного середовища аскорбінової кислоти 0,5мМ/л.

Висновок про здатність досліджуваних субстанцій пригнічувати процеси аскорбатіндукованого ПОЛ робили за вмістом та швидкістю накопичення ТБК-активних продуктів.

Результати проведених досліджень наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Антиоксидантна активність засобу, одержаного за заявленим способом, в умовах *in vitro* на моделі аскорбатіндукованого пригнічення ПОЛ

Час інкубації	Контроль		Речовина, яку додавали до інкубації			
			Віт. Е		Досліджуваний засіб	
5хв	a	0,43±0,07	0,29±0,03	1,48*	0,32±0,03	1,34*
10хв	a	0,68±0,05	0,45±0,13	1,5*	0,42±0,11	1,6*
	б	0,05	0,032	1,56*	0,02	2,5*
15хв	a	0,95±0,13	0,66±0,06	1,44*	0,69±0,03	1,37*
	б	0,052	0,037	1,4*	0,037	1,4*

Примітка:

а - концентрація ТБК-ректантів (нмоль)

б - швидкість накопичення ТБК-сектантів (нмоль/хв)

* - порівняльний коефіцієнт відношення показника контрольної групи до показника піддослідної групи тварин

Внесення до інкубаційного середовища досліджуваного засобу призводило до зменшення у порівнянні з контролем концентрації та швидкості накопичення ТБК-ректантів у 1,34-1,6 та 1,4-2,5 рази відповідно. Для препарату порівняння ці показники склали 1,44-1,5-1,56 рази відповідно. Найвища антиоксидантна активність досліджених засобів спостерігається на 10хв. експерименту. Засіб, одержаний за заявленим способом, за антиоксидантною активністю перевищує препарат порівняння - вітамін Е.

Таким чином заявлено спосіб одержання засобу з листя абрикосу у формі сухого екстракту з протизапальною та антиоксидантною активністю.

Заявлений спосіб дає змогу раціонального ви-

користання вітчизняних сировинних ресурсів, є економічним, безпечним, дозволяє використовувати додатковий вид сировини з широко культивованої рослини. Спосіб може бути здійснений на хіміко-фармацевтичних підприємствах з використанням стандартного обладнання. Одержаний за заявленим способом засіб є нетоксичним, придатним до тривалого застосування без побічних ефектів.

Джерела інформації

1. Пат. № 2063236 РФ МКИ⁶ А61К35/76. Спосіб получения суммы полисахаридов, обладающей противовоспалительной активностью / В.Н. Бубенчикова, В.И. Литвиненко, Т.П. Попова, А.С. Амосов. - № 4951309/14; Заявл. 27.06.91; Опубл.

10.07.96, Бюл. №19.

2. Деклараційний патент на корисну модель №
14493, Україна МПК (2006) А61К36/31 (2006.01),

А61К9/14, А61К127/00 (2006.01), заявл. 28.11.2005,
опубл. 15.05.2006; Бюл. №5, 2006 р.