



УКРАЇНА

(19) UA (11) 77795 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 36/185

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 29/00

A61P 39/00

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

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ПРОТИВИРАЗКОВОЮ, ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧОЮ ДІЄЮ

1

2

(21) 20041109603

(22) 22.11.2004

(24) 15.01.2007

(46) 15.01.2007, Бюл. № 1, 2007 р.

(72) Хворост Ольга Павлівна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ

(56) UA A 59681 15.09.2003

UA A 20932 07.10.1997

RU C1 2004248 15.12.1993

(57) Спосіб отримання комплексу біологічно активних речовин з противиразковою, протизапальною та мембраностабілізуючою дією, що включає трикратну водну екстракцію рослинної сировини, упарювання та сушіння одержаного сумарного екстракту, який відрізняється тим, що як рослинну сировину використовують листя ліщини звичайної або грабу звичайного, або їх суміш, екстракцію здійснюють водою при температурі 50-60°C при співвідношенні сировина : екстрагент (1-10) : (1-15) протягом 4-5 годин.

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної промисловості, а саме до способів отримання біологічно активних речовин та їх комплексів з рослинної сировини, які мають противиразкову, протизапальну та мембраностабілізуючу активність. Проблема створення препаратів вищезазначених видів дії достатньо гостро стоїть перед вітчизняною охороною здоров'я, в зв'язку з цим пошук нових джерел біологічно активних речовин є актуальним завданням.

Відомий спосіб одержання поліфенольного комплексу з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю [1] шляхом екстракції листя винограду, краще сорту Дабуги, 50% етиловим спиртом при співвідношенні сировина:екстрагент 1:10 з подальшим упарюванням до водного залишку, фільтрацією, ресорбцією фенольних сполук з осаду водою, об'єднанням фільтрату з одержаним водним розчином, упарюванням і сушінням.

Недоліками відомого способу можна вважати витрачання у великих обсягах етилового спирту, а також використання специфічної рослинної сировини, розповсюдження якої обмежене теплими кліматичними умовами.

Відомий також спосіб одержання комплексу полісахаридів протиалергійної дії [2], який включає

екстракцію листя смородини чорної гарячою водою при температурі 90°C при співвідношенні сировина:екстрагент 1:5-1:6. Одну й ту ж порцію сировини піддають екстракції тричі, причому кожен етап екстракції триває 3 години. Одержані екстракти об'єднують, упарюють до 1/7 первинного об'єму і осаджують чотирикратною кількістю етилового спирту. Одержаний осад промивають етиловим спиртом, сушать і подрібнюють, вихід готового продукту 13-14% від повітряно-сухої сировини.

Завданням винаходу є створення способу отримання комплексу біологічно активних речовин (БАР) з рослинної сировини, який шляхом використання водної екстракції листя ліщини звичайної, або грабу звичайного, або їх суміш, і забезпечує одержання комплексу БАР з вираженою противиразковою, протизапальною та мембраностабілізуючою дією, причому одержаний комплекс може бути використаний як безпосередньо у формі густого екстракту, так і в якості лікарської субстанції для одержання препаратів у різних лікарських формах.

Запропоноване рішення не відоме авторам з джерел інформації, що дозволяє зробити висновок про його новизну.

Вибір у ролі екстрагенту води зумовлений тим,

(13) C2

(11) 77795

(19) UA

що вона має високу екстрагуючу здатність по відношенню до БАР листя ліщини звичайної, або листя грабу звичайного, або їх суміші, та, окрім того, являє собою один з найдоступніших та найбільш

екологічно чистих реактивів. Експериментальні дані з вибору виду екстрагенту наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вибір виду екстрагенту в залежності від виходу готового продукту

№ п/п	Вид екстрагенту	Вихід готового продукту, % від повітряне сухої сировини
1.	Вода	14
2.	Етанол 30%	12
3.	Етанол 60%	10
4.	Етанол 96%	5

Температура екстрагенту 50-60°C вибрана експериментальне, пов'язана з отриманням максимально високого виходу кінцевого продукту,

сприяє збереженню термолабільних сполук. Дані експерименту наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Вибір оптимального температурного режиму екстракції у залежності від виходу готового продукту

№ п/п	Температура екстрагенту, °C	Вихід готового продукту, % від повітряне сухої сировини
1.	20	7
2.	30	8
3.	35	8
4.	40	10
5.	45	12
6.	50	14
7.	55	17
8.	60	15
9.	65	13

Співвідношення сировина:екстрагент 1:10-1:15 є оптимальним для обраної сировини та екстрагенту. Зменшення співвідношення призводить до зменшення виходу кінцевого продукту внаслідок неповного вилучення БАР, а збільшення

співвідношення недоцільне, тому що повнота екстракції та максимально високий вихід кінцевого продукту досягається при обраному співвідношенні 1:10-1:15. Експериментальні дані наведені в табл. 3.

Таблиця 3

Вибір оптимального співвідношення сировина:екстрагент в залежності від виходу готового продукту

№ п/п	Співвідношення сировина:вода (Т-55°C)	Вихід готового продукту, % від повітряне сухої сировини
1.	1:5	4,5
2.	1:7	10,0
3.	1:10	14,0
4.	1:12	17,2
5.	1:15	15,5
6.	1:17	11,5
7.	1:20	11,0

Час екстракції також суттєво впливає на вихід кінцевого продукту. Оптимальний термін екстрагування 4,5 години визначено шляхом експерименту. Зменшення часу екстрагування призводить до

неповного вилучення БАР з рослинної сировини, а подовження - недоцільне внаслідок припинення екстракції БАР. Результати визначення оптимального часу екстрагування наведені в табл. 4.

Таблиця 4

Вибір оптимального часового терміну екстрагування БАР
листя ліщини звичайної в залежності від виходу готового продукту

№ п/п	Час екстрагування, год	Вихід готового продукту, % від повітряне сухої сировини
1.	0,5	4,5
9	1	8,0
3.	1,5	10,0
4.	2	11,2
5.	2,5	13,5
6.	3	15,5
7.	4,5	17,0
8.	6	17,4

Кратність етапів екстрагування також впливає на вихід кінцевого продукту. Цей параметр визна-

чено експериментальним шляхом. Результати досліджень наведені в таблиці 5.

Таблиця 5

Вибір оптимальної кратності етапів екстрагування в залежності від виходу готового продукту

№ п/п	Співвідношення сировина:вода (Т-55°С)	Вихід готового продукту, % від повітряне сухої сировини
1.	1	5,5
2.	2	10,0
3.	3	17,0
4.	4	17,2
5.	5	17,5

З даних табл. 5 витікає, що оптимальними для заявленого способу є 3-кратна екстракція сировини.

Заявлений спосіб здійснюється наступним чином. Листя ліщини звичайної, або грабу звичайного, або їх суміші, подрібнюють до розміру часток 0,5-1,0 мм та екстрагують водою, підігрітою до 50-60°С, при оптимальному співвідношенні сировина:екстрагент 1:10-1:15. Сировину піддають екстракції трічі. Загальний час екстракції 4-5 годин. Отримані екстракти об'єднують, концентрують у вакуумі та сушать у вакуум-сушильній шафі до видалення залишків екстрагенту (остаточна вологість 6-25%). Вихід готового продукту за заявленим способом не менш 14%.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад №1

5,0 кг сировини (листя ліщини звичайної) подрібнюють та трічі по 1,5 години екстрагують водою, підігрітою до 50°С, при співвідношенні сировина:екстрагент 1:10. Загальний час екстракції 4,5 години. Отримані екстракти концентрують у вакуумі та досушують до остаточної вологи 8% у вакуум-сушильній шафі. Вихід готового продукту у перерахунку на повітряно-суху сировину становить 710 г або 14,2%.

Приклад №2

5,0 кг сировини (листя грабу звичайної) подрібнюють та трічі екстрагують водою, підігрітою до 55°С, при співвідношенні сировина:екстрагент 1:12 по 1,5 години. Отриманий сумарний екстракт концентрують у вакуумі та досушують до остаточної вологи 8% у вакуум-сушильній шафі. Вихід готового продукту у пере-

рахунку на повітряно-суху сировину становить 875 г або 17,5%.

Приклад №3

5,0 кг сировини (суміші листя ліщини звичайної та листя грабу звичайного) подрібнюють та трічі екстрагують водою, підігрітою до 60°С, при співвідношенні сировина:екстрагент 1:15. Отриманий сумарний екстракт концентрують у вакуумі та досушують до остаточної вологи 8% у вакуум-сушильній шафі. Вихід готового продукту у перерахунку на повітряно-суху сировину становить 775 г або 15,5%.

Приклад №4

Вивчення протизапальної активності комплексу БАР з листя ліщини звичайної у вигляді екстракту, одержаного за заявленим способом, було проведено на моделі карагінінового набряку лап у щурів, яка дозволяє визначити антиексудативні властивості досліджуваного екстракту і оцінити його вплив на метаболізм та визволення простагландинів, які за даною моделлю є основними медіаторами запалення. Дослідних тварин було поділено на 3 групи: контрольну та 2 дослідні. Тварини першої дослідної групи одержували екстракт, отриманий за заявленим способом, тварини другої дослідної групи одержували препарат порівняння - вольтарен. Величину набряку розраховували за різницею між обсягами здорової та ураженої лапи. Протизапальну активність досліджуваного екстракту та вольтарену у досліді визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з контрольними. Результати дослідів наведені в таблиці 6.

Таблиця 6

Вивчення протизапальної активності досліджуваного екстракту у порівнянні з вольтареном на моделі карагенінового набряку

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Кількість тварин в групі	Величина набряку, мм	Протизапальна активність, %
Контроль	-	6	27,83±1,76	-
Досліджуваний екстракт	25,0	6	0,19±0,08	82,84±17,95
Вольтарен	8,0	6	6,17±1,31	77,8±15,54

За даними таблиці 6 досліджуваний комплекс БАР з листя ліщини звичайної у вигляді екстракту за протизапальною активністю перевищує препарат порівняння вольтарен. Ефективна доза антиексудативної активності комплексу БАР з листя ліщини звичайної становить 25 мг/кг.

Приклад №5

При вивченні противиразкової активності екстракту листя ліщини звичайної, одержаного за заявленим способом, використовували модель ураження слизової оболонки шлунку сумішшю спирту з преднізолоном.

Досліди проводили на 5 групах тварин. Перша була контрольною, 2-5 групи за годину до відтворення деструктивного ураження шлунку перорально отримували екстракт листя ліщини в дозах 500, 100, 50 і 25 мг/кг відповідно.

Через 24 години проводили мікроскопічне дослідження слизової оболонки шлунку у тварин усіх груп, при цьому враховували площу виразок у балах, число тварин з виразками та розраховували противиразковий індекс (ВІ). Дані наведені в таблиці 7.

Таблиця 7

Вивчення противиразкової активності досліджуваного комплексу БАР

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Кількість тварин у групі	Стан слизової оболонки шлунка		
			Площа виразок, бали	Тварини з виразками, %	ВІ
Контроль	-	8	25,88±4,40	100	2,07
Екстракт листя ліщини звичайної	500	4	25,25±10,09	100	1,01
“	100	4	19,00±9,27	100	0,76
“	50	4	6,50±3,84	50	0,13
“	25	4	5,50±2,18	50	0,11

За даними табл. 7 досліджений екстракт проявляє виражену противиразкову активність на даній моделі. Зі зменшенням дози активність його збільшується. Противиразкова активність дослідженого екстракту в дозі 50 мг/кг в 8 разів більша за дозу 500 мг/кг, а в дозі 25 мг/кг - вираженіша за дозу 50 мг/кг.

Таким чином, проведені дослідження показали, що екстракт листя ліщини звичайної в дозі 25 мг/кг має виражену противиразкову активність на моделі спирто-преднізолонової виразки у щурів.

Приклад №6

Вивчення мембраностабілізуючої активності екстракту з листя ліщини звичайної, одержаного за

заявленим способом, вивчали за допомогою удосконаленого методу Шрека.

Для визначення цитотоксичної дії у пробірці вносили по 5 мл клітинної зависі (з концентрацією 240 000 кліток в мл³) і 0,125 мл 2% розчину. За контроль обрано серії з додаванням 0,125 мл фізіологічного розчину. Час експозиції становив 15 хвилин. Була використана модель, на фоні якої тестувався препарат порівняння есенціале. Результати наведені в табл. 8. Дані таблиці 8 свідчать, що екстракти листя ліщини звичайної та листя грабу звичайного мають виражену мембраностабілізуючу активність, що перевищує дію есенціале.

Таблиця 8

Вивчення мембраностабілізуючої дії комплексу БАР з листя ліщини звичайної

Умови досліджу	Мембраностабілізуюча активність, %
Контроль (нативний стан)	98
Есенціале	87
Екстракт листя ліщини звичайної	97
Екстракт листя грабу звичайного	92

Таким чином заявлено спосіб одержання комплексу БАР з листя ліщини звичайної, або листя

грабу звичайного, або їх суміші, з вираженою противиразковою, протизапальною та мембрано-

стабілізуючою дією. Заявлений спосіб простий, економічний, передбачає використання доступної вітчизняної сировини та екологічно безпечних реактивів, може бути здійснений на будь-якому фармацевтичному підприємстві зі стандартним обладнанням. Комплекс БАР, одержаний за заявленим способом, може бути використаний у якості лікарського засобу у формі густого екстракту або як лікарська субстанція для створення препаратів у різних лікарських формах.

Джерела інформації:

1. Патент 59681, Україна, МПК А 61 К 35/78,

Спосіб одержання поліфенольного комплексу "Флавітін" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиокисдантною активністю. З. №2002119121, заявл. 15.11.2002, опубл. 15.09.2003, Бюл. №9.

2. Патент 24032, Україна, МПК А 61 К 35/78, Спосіб одержання комплексу полісахаридів протиалергічної дії та лікарських препарат "Глюкорібін", який містить вказаний комплекс. З. №95125519, заявл. 28.12.95, опубл. 31.08.98, Бюл. №4.