



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 78872

(13) U

(51) МПК

A61K 36/74 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2012 08049**

(22) Дата подання заявки: **02.07.2012**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.04.2013**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.04.2013, Бюл.№ 7**

(72) Винахідник(и):

**Горяча Ольга Володимирівна (UA),**

**Кашпур Наталія Валеріївна (UA),**

**Ільїна Тетяна Василівна (UA),**

**Ковальова Алла Михайлівна (UA),**

**Юрченко Наталія Сергіївна (UA),**

**Волянський Андрій Юрійович (UA),**

**Сидора Наталія В'ячеславівна (UA),**

**Колісник Яна Сергіївна (UA),**

**Кошовий Олег Миколайович (UA),**

**Комісаренко Андрій Миколайович (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ,**

**вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)**

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІПОФІЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ З ПРОТИГРИБКОВОЮ ДІЄЮ З ТРАВИ  
ПІДМАРЕННИКА ПУХНАСТОНОГО**

(57) Реферат:

Спосіб одержання хлороформного комплексу з протигрибковою дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини хлороформом при загальному співвідношенні сировини. Як рослинну сировину використовують траву підмаренника пухнастоного (*Galium dasypodum* Klok.).

UA 78872 U



Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної галузі, а саме до способів одержання з рослинної сировини комплексів ліпофільних біологічно активних речовин (БАР) з протигрибковою дією, які можуть бути використані як лікарські субстанції при створенні антифунгальних препаратів у різних лікарських формах.

Відомий спосіб одержання рідкого екстракту з протимікробною та протигрибковою активністю з бруньок берези бородавчастої [1] шляхом поділу сировини на три частини та багатократним екстрагуванням кожної частини сировини спиртом етиловим 60-70 % або екстрагуванням наступної частини сировини відпуском, отриманим перколяцією попередньої порції сировини, з подальшою очисткою одержаного рідкого екстракту від супутніх речовин відстоюванням при температурі 8 °С не менше 2 діб та наступною очисткою.

До недоліків зазначеного способу слід віднести багатостадійність та довготривалість технологічного процесу, використання великих об'ємів спирту етилового.

Найближчим аналогом до заявленого способу за сукупністю ознак є спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії [2], згідно з яким як сировину використовують траву підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), екстракцію здійснюють хлороформом при загальному співвідношенні сировина: екстрагент 1:10-1:12, з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі протягом 28-32 годин, з наступним упарюванням та видаленням екстрагенту і отриманням сухого залишку.

Ліпофільний комплекс, отриманий із зазначеної сировини, а саме трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), має достовірну антимікробну дію.

Авторами встановлено виражену протигрибкову дію ліпофільного комплексу, одержаного з іншої рослинної сировини - підмаренника пухнастоногого (*Galium dasypodium* Klok.).

Задачею корисної моделі є створення способу одержання засобу рослинного походження шляхом екстракції хлороформом трави підмаренника пухнастоногого, в результаті чого одержують хлороформний комплекс БАР з широким спектром протигрибкової активності.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі одержання хлороформного комплексу з протигрибковою дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини хлороформом при загальному співвідношенні сировини: екстрагент 1:10-1:12 до знебарвлення розчинника при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі протягом 28-32 годин, згідно з корисною моделлю, як рослинну сировину використовують траву підмаренника пухнастоногого (*Galium dasypodium* Klok.).

Корисною моделлю передбачено, що як рослинну сировину використовують траву підмаренника пухнастоногого. Підмаренник пухнастоногий (*Galium dasypodium* Klok.) - багаторічна трав'яниста рослина родини маренові (*Rubiaceae* Juss.), здавна використовується у народній медицині з лікувальною метою [3].

Авторами вперше було визначено протигрибкову дію хлороформного екстракту, одержано за заявленим способом.

Компонентний склад хлороформного екстракту рослини представлено біологічно активними речовинами, що мають виражені протигрибкові властивості - хлорофілами, терпеноїдами, стероїдними та ароматичними сполуками.

Вибір хлороформу як хлорорганічного розчинника для здійснення заявленого способу обумовлений його здатністю максимально екстрагувати ліпофільні сполуки з вибраної рослинної сировини.

Експериментальним шляхом встановлено, що оптимальним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини до екстрагенту як 1:10-1:12. При цьому, якщо співвідношення менше 1:10, не забезпечується достатня екстракція БАР, що приводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Навпаки співвідношення більше 1:12 веде до ускладнення та подовження технологічного процесу, збільшення використання розчинника та енерговитрат. Екстракція протягом 28-32 годин забезпечує максимальне вилучення ліпофільних сполук з сировини.

Згідно з заявленим способом упарювання проводять до видалення екстрагенту з подальшим отриманням сухого залишку.

Отриманий залишок представляє собою темно-зелену порошкоподібну масу із різким характерним запахом.

Заявлений спосіб здійснюють в умовах рециркуляції екстрагента у замкненому циклі, що запобігає виходу хлороформу в оточуюче середовище.

Спосіб здійснюють за простою технологією, яку можливо відтворити на стандартному заводському обладнанні, екстракцію проводять до повного вилучення БАР, що екстрагуються хлороформом, з сировини. Одержують субстанцію рослинного походження з широким спектром протигрибкової активності, нетоксичну, придатну до тривалого застосування без формування

резистентності патогенної мікрофлори [4]. Для здійснення заявленого способу існує достатня вітчизняна сировинна база.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1.

- 5 1 кг заготовленої у фазу цвітіння і подрібненої трави підмаренника пухнастоного завантажили у циркуляційний екстрактор, залили 10 л хлороформу та вичерпно екстрагували при постійно підтримуваній температурі 55 °С протягом 32 годин при загальному співвідношенні сировина: екстрагент 1:10 з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі до знебарвлення екстрагенту. Отриманий екстракт упарювали до видалення парів хлороформу у вакуумі до

10 отримання сухого залишку.

Вихід цільового продукту становить 6,89 %.

Приклад 2.

- 15 Протигрибкову активність хлороформного екстракту трави підмаренника пухнастоного, отриманого за заявленим способом, досліджували in vitro методом дифузії в агар (метод "колодязів") [5]. Ступінь чутливості грибів оцінювали за розміром зон затримки росту. Мікробне навантаження складало  $10^7$  мікробних клітин на 1 мл середовища і визначалось візуально за оптичним стандартом каламутності McFarland.

- 20 Як тест-культури були використані 17 штамів грибів - 10 тест-культур грибів роду *Candida*: *C. albicans* ATCC 885/653, *C. parapsilosis* 488/10, *C. yamata* (*Debariomyces hansenii*) 40 b/3, *C. rugosa* Склад 27, *C. tropicalis* F-195, *C. tropicalis* 195, *C. utilis* (*Pichajadinii*) CCTM 991, *C. intermedia* Y-59, *C. intermedia* ATCC 14439 та *C. glabrata* 1712 та 7 тест-штамів грибів, що не належать до роду *Candida*: *Geotrichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Склад 9, *Zygosaccharo* spp. 40 b/2, *Cryptococcus neoformans* 32609, *Rhodoflora glutinis* F-129, *Picha anomala* 40, *Kluveromyces lactis* F 116 та *Aspergillus niger* 704.

- 25 Для визначення протигрибкової активності хлороформного екстракту підмаренника пухнастоного використовували середовище Сабуро. Кожну серію живильного середовища якісно та кількісно контролювали згідно з нормативними документами.

- 30 Як препарати порівняння використовували синтетичний антимікотик групи триазолів - флуконазол (200 мг/мл) та рослинний антимікробний препарат хлорофіліпт (1 % спиртовий розчин).

Хлороформний екстракт використовували у вигляді 1 % спиртового розчину. Результати проведених досліджень наведені в таблиці.

Таблиця

Протигрибкова активність хлороформного екстракту підмаренника пухнастоного, одержаного за заявленим способом у співставленні з препаратами порівняння

№ з/п	Тест-штам	Затримка росту мікроорганізмів, мм (M±m)		
		ХЕ п. пухнастоного*	Флуконазол	Хлорофіліпт
1.	<i>C. albicans</i> ATCC 885/653	30,3±0,2	25,2±0,6	16,1±0,5
2.	<i>C. parapsilosis</i> 488/10	30,3±0,2	19,1±0,5	19,2±0,6
3.	<i>C. yamata</i> ( <i>Debariomyces hansenii</i> ) 40b/3	28,1±0,1	20,1±0,5	17,1±0,5
4.	<i>C. rugosa</i> Склад 27	33,3±0,3	19,2±0,6	19,2±0,6
5.	<i>C. tropicalis</i> F-195	25,3±0,2	15,2±0,4	x
6.	<i>C. tropicalis</i> 195	24,3±0,1	20,1±0,6	x
7.	<i>C. utilis</i> ( <i>Pichajadinii</i> ) CCTM 991	26,3±0,3	19,1±0,5	x
8.	<i>C. intermedia</i> Y-59	32,3±0,3	20,1±0,6	x
9.	<i>C. intermedia</i> ATCC 14439	32,3±0,3	21,2±0,7	x
10.	<i>C. strata</i> 1712	30,1±0,1	10,0±0,1	x
11.	<i>Geotrichum candidum</i> ( <i>Galactomyces geotrichum</i> ) Склад 9	x	21,1±0,6	x
12.	<i>Zygosaccharo</i> spp. 40 b/2	30,3±0,2	x	16,1±0,5
13.	<i>Cryptococcus neoformans</i> 32609	x	19,1±0,5	x
14.	<i>Rhodoflora glutinis</i> F-129	x	x	x
15.	<i>Picha anomala</i> 40	x	17,1±0,5	18,1±0,4

Продовження таблиці

16.	<i>Kluveromyces lactis</i> F 116	x	17,2±0,4	x
17.	<i>Aspergillus niger</i> 704	28,3±0,2	x	x

Примітка: x - відсутність затримки росту; \*ХЕ п. пухнастоного - хлороформний екстракт підмаренника пухнастоного

Аналіз даних таблиці свідчить про те, що усі використані тест-культури грибів роду *Candida*, а також штами *Zygosaccharo* spp. 40 b/2 та *Aspergillus niger* 704 є високочутливими до хлороформного екстракту.

Отриманий за заявленим способом хлороформний екстракт за своєю активністю по відношенню до грибів роду *Candida*, а також штамів *Zygosaccharo* spp. 40 b/2 та *Aspergillus niger* 704 перевищує не тільки хлорофіліпт, а й класичний синтетичний антимікотик флуконазол.

Отже, хлороформний комплекс трави підмаренника пухнастоного є новою високоефективною субстанцією рослинного походження з широким спектром протигрибкової активності.

Таким чином, заявлено спосіб одержання хлороформного витягу з трави підмаренника пухнастоного з протигрибковою активністю. Заявлений спосіб простий, економічний, передбачає використання доступної вітчизняної сировини, є екологічно безпечним і може бути здійснений на будь-якому фармацевтичному підприємстві зі стандартним обладнанням. Ліпофільний комплекс з трави підмаренника пухнастоного, одержаний за заявленим способом, може бути використаний як лікарська субстанція при створенні антифунгальних препаратів широкого спектра дії у різних лікарських формах.

Джерела інформації:

1. Пат. 19508 U, Україна, МПК А61К36/20 (2006.01), Заявл. 03.07.2006, Опубл. 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.

2. Пат. UA 64792 U, Україна, МПК А61К 36/74, А61К 135/00, А61Р 31/04, Заявл. 22.02.2011; Опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22, 2011 р.

3. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Caprifoliaceae-Plantaginaceae. - Л.: Наука, 1990.-326с.

4. Дослідження формування резистентності мікроорганізмів та грибів до ліпофільних фракцій представників роду *Galium* L. / Кашпур Н.В, Волянський А.Ю., Горяча О.В., Казмірчук В.В., Ковальова А.М., Ільїна Т.В., Осолодченко Т.П., Парусов А.В. // Annals of Mechnikov Institute. 2011. - №3. - С. 27-34.

5. Решедько Г.К., Стецюк О.У. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузным методом // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.-2001. - Т.3, №4. - С. 348-355.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання хлороформного комплексу з протигрибковою дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини хлороформом при загальному співвідношенні сировини:екстрагента 1:10-1:12 до знебарвлення розчинника при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі протягом 28-32 годин, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують траву підмаренника пухнастоного (*Galium dasypodium* Klok.).

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601