



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **84099** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61K 36/00
A61P 37/08 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 04423	(72) Винахідник(и): Марчишин Світлана Михайлівна (UA), Луканюк Мар'яна Ігорівна (UA), Демидяк Ольга Лютославівна (UA), Леницька Олена Борисівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.04.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.10.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2013, Бюл.№ 19	(73) Власник(и): ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО, Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001 (UA)

(54) ОТРИМАННЯ ПОЛІСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСУ З АНТИГІСТАМІННОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

Спосіб одержання рослинної субстанції з антигістамінною активністю включає проведення екстракції біологічно активних речовин 70 % етиловим спиртом. Одержаний спиртовий екстракт відфільтровують крізь паперовий фільтр під вакуумом і згущують до густого залишку, шрот екстрагують гарячою водою. Водний витяг відфільтровують крізь паперовий фільтр під вакуумом, згущують до 1/5 об'єму та висаджують полісахариди 96 % спиртом етиловим. Осад полісахаридів відфільтровують крізь паперовий фільтр, полісахариди висушують на повітрі до густої в'язкої маси.

UA 84099 U

Корисна модель належить до фармації, зокрема способів одержання фармакологічно активної субстанції з лікарської сировини, а саме з листків липи серцелистої (*Tilia cordata* Mill.), комплексу полісахаридів із антигістамінною активністю, які можна використати як активну діючу речовину лікарських засобів з антигістамінною дією.

Відомий спосіб одержання полісахаридного комплексу з антиалергічною активністю, зокрема з болиголовця плямистого шляхом екстракції сировини [1].

Недоліком відомого способу є недостатній рівень технологічності, що впливає із обмеження його лише станом водного екстрагування.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення способу одержання полісахаридного комплексу з антигістамінною активністю шляхом спиртово-водного екстрагування з рослинної сировини липи серцелистої біологічно активних речовин.

При вирішенні технічного завдання були взяті до уваги результати попередніх досліджень, які показали, що листки липи серцелистої містять біологічно активні речовини: полісахариди, які характеризуються протигістамінними властивостями, а отриманий полісахаридний комплекс листків липи серцелистої є перспективним для використання як антигістамінний засіб [2].

Поставлена задача вирішується тим, що одержання фармакологічно активної субстанції із листків липи серцелистої (*Tilia cordata* Mill.), проводять екстракцією біологічно активних речовин 70 % спиртом етиловим, одержаний спиртовий екстракт відфільтровують крізь паперовий фільтр під вакуумом і згущують до густого залишку, шрот екстрагують гарячою водою, водний витяг відфільтровують крізь паперовий фільтр під вакуумом, згущують до 1/5 об'єму та полісахариди висаджують 96 % спиртом етиловим, осад полісахаридів відфільтровують крізь паперовий фільтр, полісахариди висушують на повітрі до густої в'язкої маси.

Спосіб здійснюють наступним чином. Повітряносуху сировину (листки липи серцелистої) подрібнену до розміру часток, які проходять крізь сито з діаметром отвору № 2800 заливають 70 % спиртом етиловим до дзеркала з урахуванням коефіцієнта водопоглинання сировини і екстрагують протягом 24 годин при кімнатній температурі. Спиртовий витяг зливають, залишки екстракту із сировини відфільтровують крізь вакуумний фільтр. Одержаний спиртовий екстракт упарюють на вакуумному випарюванні при температурі 60-70 °С до водного залишку. Шрот заливають гарячою водою у співвідношенні 1:20 і екстрагують протягом 2 годин на водяній бані. Водний екстракт зливають, фільтрують крізь 4 шари марлі. Екстракцію повторюють ще двічі по 1 годині. Об'єднані екстракти фільтрують під вакуумом крізь паперовий фільтр, згущують у вакуум-випарному апараті до 1/5 об'єму, поміщають у посудину із широким дном і висаджують полісахариди 96 % спиртом етиловим у співвідношенні 1:5. Осад полісахаридів відфільтровують крізь паперовий фільтр. Полісахариди висушують на повітрі до густої в'язкої маси.

Приклад 1.

257 г листків липи серцелистої подрібнених до розміру часток, які проходять крізь сито з діаметром отвору № 2800 заливали 70 % спиртом етиловим до дзеркала і екстрагували протягом 24 годин при кімнатній температурі. Спиртовий витяг зливали, залишки екстракту із сировини відфільтровували крізь друк-фільтр. Одержаний спиртовий екстракт упарювали на вакуумному випарювачі при температурі 60-70 °С до густого залишку. Шрот заливали гарячою водою у співвідношенні 1:20 і екстрагували протягом 2 годин на водяній бані. Водний екстракт зливали, фільтрували крізь друк-фільтр. Екстракцію повторювали ще двічі по 1 годині. Об'єднані екстракти фільтрували під вакуумом крізь паперовий фільтр, згущували у вакуум-випарному апараті до 1/5 об'єму, поміщали у посудину із широким дном і висаджували полісахариди 96 % спиртом етиловим у співвідношенні 1:5. Осад полісахаридів відфільтровували крізь друк-фільтр. Полісахариди висушили на повітрі до густої в'язкої маси. Вихід полісахаридів становив 13,64 г, тобто 5,31 %.

Полісахаридний комплекс - густа в'язка маса темно-коричневого кольору, добре розчинна у воді, не розчиняється в органічних розчинниках. Отриманий полісахаридний комплекс солодкий на смак, з приємним специфічним запахом.

Приклад 2.

Антигістамінні властивості полісахаридів липи досліджено *in vivo* на мурчаках методом гострого експерименту, під час якого спостерігали офтальмічну реакцію запалення, викликану гістаміном. Виразність офтальмореакції оцінювали на 15 хвилину розвитку.

Скринінг антигістамінної активності в залежності від дози проведено на 35-ти мурчаках обох статей масою 250-300 г. Екстракт липи вводили за умов профілактичного режиму протягом 5-ти днів у вигляді водного розчину перорально в дозах 10, 25, 50, 100 та 150 мг/кг сухої речовини.

Препарат порівняння - таблетки «Кларитин», вводили в дозі 1 мг/кг, яка була розрахована (виходячи з добової дози для людини) як умовнотерапевтична за допомогою коефіцієнтів видової стійкості за Ю.Р. Риболовлевим.

Тваринам групи позитивного контролю вводили дистильовану воду в кількості еквівалентній масі тіла.

На 5-й день через 40 хвилин після введення полісахаридів липи мурчакам в одне око закапували 1 краплю 1 % водного розчину солянокислого гістаміну (виробництва «Fluka», Швейцарія). Друге око служило контролем. Виразність офтальмореакції оцінювали через 10-15 хвилин після введення гістаміну за 3-х бальною шкалою [3]:

0 балів - відсутність видимої реакції;

1 бал - реакція слабка (мало помітний набряк повік, короточасне почухування ока, невелика слъозотеча);

2 бали - реакція помірна (помірний набряк повік і кон'юнктиви, слабка гіперемія кон'юнктиви й склери, помірна слъозотеча, короточасне почухування ока);

3 бали - виражена реакція (сильний набряк кон'юнктиви і склери, сильна гіперемія кон'юнктиви й склери, велика слъозотеча, чітко виражені часті почухування ока).

Антигістамінну активність полісахаридів липи визначали за їх здатністю зменшувати виразність офтальмореакції в порівнянні з позитивним контролем та виражали у відсотках за формулою:

$$AG = \frac{OP_K - OP_D}{OP_K} 100\%$$

де: АГ - антигістамінна активність, %;

OP_к - виразність офтальмореакції в групі тварин позитивного контролю, бали;

OP_д - виразність офтальмореакції в групі дослідних тварин, бали.

Аналіз результатів дослідження, наведених в таблиці, показав, що після введення розчину гістаміну під кон'юнктиву ока у тварин групи позитивного контролю через 2-3 хвилини розвивався виражений набряк кон'юнктиви та повік (хемоз). Вже на 15 хвилину реакція посилювалася - набряк супроводжувався сильною слъозотечею, гіперемією кон'юнктиви і повік. Максимальний розвиток запальної реакції ока, яка тривала 1 годину, спостерігали через 10-15 хвилин після введення гістаміну. Виразність реакції у всіх тварин оцінювали в 3 бали (табл.).

Тваринам дослідних груп профілактично (протягом 5 днів) перорально вводили полісахариди липи в дозах 10, 25, 50, 100, 150 мг/кг. Як видно з таблиці, зниження вираженості офтальмореакції достовірно відносно позитивного контролю спостерігали на тлі введення полісахаридів липи в дозах 50-150 мг/кг.

Таблиця

Вплив полісахаридів липи при профілактичному введенні (термін 5 днів) на виразність офтальмореакції у мурчаків у відповідь на введення гістаміну

Групи	n	Доза, мг/кг	Виразність реакції, бали	Антигістамінна активність, %
позитивний контроль	5	-	3,00 (3÷3)	-
полісахариди липи	5	10	3,00 (3÷3)**	0
полісахариди липи	5	25	2,60 (2÷3)	13
полісахариди липи	5	50	2,40 (2÷3)*	20
полісахариди липи	5	100	2,40 (2÷3)*	20
полісахариди липи	5	150	2,40 (2÷3)*	20
таблетки «Кларитин»	5	1	1,83(1÷2)*	39

Примітки:

1. *- відхилення показника достовірно відносно до показника позитивного контролю, p<0,05;

2. ** - відхилення показника достовірно відносно до показника референтного препарату, p<0,05;

3. n - кількість тварин у групі.

Полісахариди липи в дозах 50-150 мг/кг достовірно знижували виразність офтальмореакції. На тлі введення полісахаридів липи в дозах 10 та 25 мг/кг показники вираженості офтальмореакції достовірно не відрізнялись від показників групи позитивного контролю. Аналіз отриманих даних, показав, що фармакологічний ефект полісахаридів липи не є дозозалежним.

Антигістамінна активність, визначена для полісахаридів липи в дозах 50, 100 та 150 мг/кг, була однаковою та склала 20 % (табл.), в дозі 25 мг/кг - лише 13%. В дозі 10 мг/кг полісахариди липи не виявили антигістамінної активності.

Антигістамінна активність референтного препарату була високою та склала 39 % (табл.), однак достовірно не перевищувала активність полісахаридів липи.

Таким чином, полісахариди липи в дозах 50, 100 та 150 мг/кг виявили помірну антигістамінну активність, що сприяло пригніченню ефектів гістаміну: у дослідних тварин спостерігали лише слабку сльозотечу, помірний набряк повік та кон'юнктиви.

Офтальмореакцію у тварин зазначених груп оцінили переважно в 2 бали. Подальшого розвитку запального процесу не спостерігали. Вже після 30 хвилини спостереження у тварин всі явища офтальмічної реакції зникали.

З наведених даних видно, що полісахариди липи мають найбільш виражені антигістамінні властивості в дозах 50-150 мг/кг, а в дозах 10 та 25 мг/кг не проявляють антигістамінної активності.

Аналіз отриманих результатів дозволив зробити наступні висновки: на даній моделі найбільш стабільний помірний антигістамінний ефект виявили полісахариди липи в дозах 50, 100 та 150 мг/кг.

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує отримання біологічно активних речовин з листків липи серцелистої у вигляді полісахаридного комплексу із вираженою антигістамінною активністю і може бути використаний у промисловому виробництві лікарських препаратів на основі рослинної сировини, як засобу з антигістамінною дією.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Пат. Україна №23879 (U2007 00913). МПК А61К 36/00 G01N 30/02. Процес одержання та кількісного визначення полісахаридного комплексу з болиголова плямистого / Ю.Ю. Малиновський, В.М. Чушенко, В.С. Бондар заявл. 29.01.2007; опубл. 11.06.2007, Бюл. №8, 2007 р.

2. Луканюк М.І. Вміст полісахаридів у листках рослин родини Липові / М.І. Луканюк, С.М. Марчишин // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2011. - С. 42-43.

3. Адо А.Д. Общая аллергия. - М.: Медицина, 1978. - 463 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання рослинної субстанції з антигістамінною активністю, що включає проведення екстракції біологічно активних речовин 70 % етиловим спиртом, який **відрізняється** тим, що одержаний спиртовий екстракт відфільтровують крізь паперовий фільтр під вакуумом і згущують до густого залишку, шрот екстрагують гарячою водою, водний витяг відфільтровують крізь паперовий фільтр під вакуумом, згущують до 1/5 об'єму та висаджують полісахариди 96 % спиртом етиловим, осад полісахаридів відфільтровують крізь паперовий фільтр, полісахариди висушують на повітрі до густої в'язкої маси.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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