



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **84100** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61K 36/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 04424	(72) Винахідник(и): Марчишин Світлана Михайлівна (UA), Луканюк Мар'яна Ігорівна (UA), Демидяк Ольга Лютославівна (UA), Яковлева Лариса Василівна (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 ФАРМАКОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ СУБСТАНЦІЇ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

Спосіб одержання рослинної субстанції з протизапальною 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, фільтрат упарюють до густого та об'єднують із густим екстрактом після екстракції 70 % спиртом етиловим.

UA 84100 U

Корисна модель належить до фармації, зокрема способів одержання фармакологічно активної субстанції з лікарської сировини, а саме з листків липи серцелистої (*Tilia cordata* Mill.), поліфенольного комплексу з протизапальною активністю, який може бути використаний як активна діюча речовина лікарських засобів протизапальної дії.

Відомий спосіб отримання фенольного комплексу з протизапальною активністю, зокрема з арніки листяної (*Arnica foliosa* Nutt.), який включає технологічний етап екстрагування [1].

Недоліком відомого способу є недостатній рівень технологічності, що впливає із обмеження його лише станом водного екстрагування. В силу чого, розчинні в спирті компоненти не потрапляють в екстракт. Наведене обумовлює недостатній спектр фармакологічної активності.

В основу корисної моделі поставлена задача розробки способу одержання рослинної субстанції з протизапальною активністю шляхом спиртово-водного екстрагування з рослинної сировини листків липи серцелистої біологічно активних речовин, які мають протизапальну дію.

При вирішенні технічного завдання були взяті до уваги результати попередніх досліджень, які показали, що листки липи серцелистої містять біологічно активні речовини: флавоноїди, дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти, органічні кислоти, ефірні олії, які характеризуються протизапальними властивостями, а отриманий густий екстракт листків липи серцелистої є перспективним для використання як протизапального засобу [3, 4, 5].

Поставлена задача вирішується тим, що виходячи з наведеного, 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 висаджують полісахариди 96 % спиртом етиловим, осад полісахаридів відфільтровують крізь паперовий фільтр, фільтрат упарюють до густого та об'єднують із густим екстрактом після екстракції 70 % спиртом етиловим.

Спосіб здійснюють наступним чином. Повітряно-суху 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 водопоглинення 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 випарювачі при температурі 60-70 °С до густого. Шрот заливають гарячою водою у співвідношенні 1:20 і екстрагують протягом 2 годин на водяній бані. Водний екстракт охолоджують і фільтрують через вакуумний фільтр. 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, отриманий фільтрат упарюють до густого та об'єднують із густим екстрактом після екстракції 70 % спиртом етиловим.

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 вакуумний фільтр. Одержаний спиртовий екстракт упарювали на вакуумному випарювачі при температурі 60-70 °С до густого. Маса густого екстракту становила 25,17 г (9,79 %). Сировину заливали гарячою водою у співвідношенні 1:20 і екстрагували протягом 2 годин на водяній бані. Водний екстракт охолоджували, фільтрували крізь 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 паперовий фільтр, отриманий фільтрат упарювали до густого та об'єднують із густим екстрактом після екстракції 70 % спиртом етиловим.

Отриманий екстракт липи серцелистої (ЕЛС) - це густий розчин темно-зеленого кольору, із солодкуватим смаком та приємним специфічним запахом.

Приклад 2.

Дослідження протизапальної дії, а саме антиексудативних властивостей густого екстракту з листя липи, проведено на білих безпородних щурах масою 160-180 г по 5 тварин у групі на моделі гострого карагенінового набряку, в механізмі якого приймають участь різні медіатори запалення.

Набряк викликали субплантарним введенням у праву задню лапку 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [2]. Водний розчин ЕЛС вводили внутрішньошлунково у профілактичному режимі протягом 7 діб у дозах 10, 25, 50, 100 та 150 мг/кг. Останнє введення ЕЛС здійснювали за 1 годину до ін'єкції флоготропного агенту. Як препарат порівняння використовували диклофенак натрію, який вводили однократно, внутрішньошлунково, у дозі 8 мг/кг за 1 годину до моделювання набряку. Тварини з групи контрольної патології отримували питну воду в еквівалентному об'ємі (1 мл/100 г маси). Величину набряку вимірювали за допомогою онкометра за А.С. Захаревським кожної години протягом 5 години та через 24 години. Антиексудативну активність препарату визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з контрольними і виражали у відсотках за формулою:

$$A = \frac{\Delta V_K - \Delta V_D}{\Delta V_K} \times 100\%,$$

де ΔV_K - середня різниця між об'ємами набряклої і вихідним значенням лапи в групі контрольної патології;

ΔV_D - середня різниця між об'ємами набряклої і вихідним значенням лапи в дослідних групах.

Антиексудативну активність ЕЛС вивчали в діапазоні доз 10, 25, 50, 100 та 150 мг/кг. Отримані дані представлені в таблиці.

Таблиця

Динаміка впливу густого екстракту з листя липи серцелистої (70 %) та диклофенаку натрію на розвиток запалення на моделі карагенінового набряку у щурів

Групи тварин	$\Delta V_{\text{середнє}}, A (\%)$	1 год.	2 год.	3 год.	4 год.	5 год.	24 год.	Середня активність, A (%)
КП	$\Delta V, \bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	12,20±12,29	19,6±1,03	26,40±1,12	28,60±1,12	31,60±2,32	18,80±1,66	-
ДН, 8 мг/кг	$\Delta_{\text{середнє}}, A (\%)$	8,80±0,49	10,60±1,03*	11,20±0,97*	9,20±1,98*	8,00±1,64*	7,00±1,52*	56 %
ЕЛ, 10 мг/кг	$\Delta_{\text{середнє}}, A (\%)$	12,60±0,75**	21,00±2,55**	23,60±2,16**	28,4±3,14**	29,20±1,20**	16,40±0,68**	5 %**/**
ЕЛ, 25 мг/кг	$\Delta_{\text{середнє}}, A (\%)$	11,60±0,81**	17,40±1,29**	21,40±1,75**	28,60±1,99**	28,80±1,56**	17,2±1,39**	9 %**
ЕЛ, 50 мг/кг	$\Delta_{\text{середнє}}, A (\%)$	9,80±1,32	17,20±0,86**	20,40±1,21**	25,20±1,62**	25,80±1,56**	16,20±1,66**	17 %**
ЕЛ, 100 мг/кг	$\Delta_{\text{середнє}}, A (\%)$	9,20±3,07	16,20±2,51	20,00±2,95**	25,40±3,44**	25,20±2,63**	16,80±2,13**	18 %**
ЕЛ, 150 мг/кг	$\Delta_{\text{середнє}}, A (\%)$	13,00±1,05**	20,00±4,11**	26,80±4,29**	29,60±4,02**	30,80±2,42**	19,80±1,98**	-

Примітки: 1. Метод Крускала-Уоліса та критерій Мана-Уїтні;

2. * - відхилення вірогідні щодо значень групи КП, при $p < 0,05$;

3. ** - відхилення вірогідні щодо значень групи, яка отримувала диклофенак натрію, при $p < 0,05$.

Отримані дані свідчать про те, що профілактичне введення ЕЛС у дозах 50 мг/кг та 100 мг/кг виявили невисоку протизапальну активність, яка зберігалася протягом всього часу дослідження в межах від 11 до 25 %, поступаючи активністю препарату порівняння. Найбільшу активність ЕЛС у цих дозах виявив на 3 годину, статистично знижуючи набряк лапки у щурів в середньому на 24 % стосовно групи контрольної патології. Середня активність ЕЛ у дозах 50 мг/кг та 100 мг/кг протягом експерименту склала 17 % та 18 % відповідно. Дія доз 10 мг/кг, 25 мг/кг та 150 мг/кг виявилась малоефективною, суттєвого підвищення активності не спостерігали.

Аналіз отриманих даних дозволяє стверджувати, що ЕЛС у дозах 50 та 100 мг/кг виявляє антиексудативний ефект, але за активністю поступається диклофенаку натрію.

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує отримання біологічно активних речовин з листків липи серцелистої у вигляді густого екстракту із протизапальною активністю і може бути

використаний у промисловому виробництві лікарських препаратів на основі рослинної сировини, як засобу з протизапальною дією.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Пат. 34254 U. Україна, МПК C11B1/10 (2008.01). Спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною активністю / С.М. Марчишин, О.Л. Демидяк, О.Ю. Кошова. - № u200800680; заявл. 01.11.2004; опубл. 15.06.2005, Бюл. № 6.
2. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт М.А., Яковлева Л.В., Клебанов Б.М. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби. У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) // За редакцією член.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена. - 2001. - С. 292-306.
3. Луканюк М.І. Хімічне дослідження листків рослин родини Липові / М.І. Луканюк // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених (21-22 квітня 2011 р.). - Х.: вид-во НФаУ, 2011. - С. 85.
4. Марчишин С.М. Фармакогностичне дослідження рослин родини Липові, що зростають у Гермаківському дендропарку / С.М. Марчишин, М.І. Луканюк, О.Л. Демидяк // Матеріали науково-практичної конференції «Довкілля і здоров'я», 27-28 квітня 2012 р. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2012. - С. 139.
5. Mariana I. Lukanuyk. Investigation of the phenolic compounds in the leaves of some Lime (Tilia) species / Mariana I. Lukanuyk // 2nd International Conference and Workshop. Plant - the source of research material. - Lublin, 2012. - P. 233.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб одержання рослинної субстанції з протизапальною 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, фільтрат упарюють до густого та об'єднують із густим екстрактом після екстракції 70 % спиртом етиловим.

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