



УКРАЇНА

(19) UA (11) 95570 (13) C2

(51) МПК (2011.01)

A61K 36/30 (2006.01)

A61K 127/00 (2006.01)

A61K 135/00 (2006.01)

A61P 29/00

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

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧОЮ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ДІЄЮ

1

(21) a201006955

(22) 07.06.2010

(24) 10.08.2011

(46) 10.08.2011, Бюл.№ 15, 2011 р.

(72) МАШТАЛЕР ВІКТОРІЯ ВОЛОДИМИРІВНА,
ГОНТОВА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА, ХВОРОСТ
ОЛЬГА ПАВЛІВНА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ

(56) UA C2 77347, 15.11.2006.

UA C2 85927, 10.03.2009.

UA A 69626, 21.10.2006.

RU C1 2363174, 10.08.2009.

RU C1 2365114, 27.08.2009.

RU C1 2266127, 20.12.2005.

RU C1 2365132, 28.04.2008.

RU C1 2369112, 10.10.2009.

2

RU C1 2364162, 08.04.2004.

EP A1 1281403, 05.02.2003.

(57) 1. Спосіб одержання засобу з мембраностабілізуючою та протизапальною дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини спиртом етиловим протягом 12 годин з подальшим об'єднанням одержаних екстрактів, фільтрацією та упарюванням, який **відрізняється** тим, що екстракції піддають бораго лікарський (*Borago officinalis* L.), екстракцію здійснюють 41-45 % спиртом етиловим при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:15, причому об'єднаний екстракт додатково відстоюють протягом 12 годин.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що використовують траву бораго лікарського або листя або їх суміш у рівних частках.

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до способів одержання засобів рослинного походження з мембраностабілізуючою та протизапальною дією, які можуть бути використані як активна субстанція при створенні відповідних лікарських препаратів у різних лікарських формах, придатних для лікування і профілактики запальних процесів внутрішніх органів та шкіри.

У сучасній медичній практиці широко використовуються лікарські засоби рослинного походження. На відміну від синтетичних такі засоби максимально споріднені до організму людини за біологічною природою, вони практично позбавлені негативної побічної дії, відзначаються низькою токсичністю та придатністю до тривалого застосування без формування звикання і залежності.

Існують різні способи одержання з рослинної сировини засобів, які проявляють протизапальну дію у комплексі з іншими видами фармакологічної активності.

Відомий спосіб одержання засобу з протизапальною, антимікробною та діуретичною дією з листя груші [1] шляхом 5-7 кратної екстракції сиро-

вини 10 % спиртом етиловим при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:9-1:11 протягом 9-11 годин з подальшим об'єднанням одержаних екстрактів і упарюванням до 1/18-1/20 попереднього об'єму.

Проте засіб, одержаний за таким способом, має вузькоспрямоване призначення, насамперед, для лікування запальних захворювань сечовидільної системи.

Відомий також спосіб одержання комплексу поліфенольних сполук з протизапальною, кардіопротекторною та антиоксидантною дією [2], який полягає у екстракції трави чини весняної 50 % спиртом етиловим у співвідношенні сировини: екстрагент 1:7 протягом 48 годин з подальшим упарюванням одержаного екстракту до 1/7-1/8 попереднього об'єму, обробкою 96 % спиртом етиловим при співвідношенні екстракт: етиловий спирт 1:1,5, фільтрацією, упарюванням надосадової рідини до 1/3 попереднього об'єму та сушкою.

До недоліків відомого способу можна віднести необхідність додаткового використання 96 % спирту етилового. Крім того, до спектру фармакологіч-

(13) C2

(11) 95570

(19) UA

ної активності засобу, одержаного за таким способом, не входить мембраностабілізуюча дія.

Найближчим до заявленого способу за сукупністю ознак є спосіб одержання засобу з антимікробною та імуностимулюючою активністю [3] шляхом 3-4 кратної екстракції листя або кореня лопуха великого 40 % спиртом етиловим при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:12-1:20 протягом 12 годин з подальшою фільтрацією та упарюванням об'єднаного екстракту.

Проте відомий спосіб не дозволяє одержати засіб з комплексною протизапальною та мембраностабілізуючою дією.

Задача винаходу полягає у створенні нового способу одержання засобу з мембраностабілізуючою та протизапальною дією, який завдяки використанню як сировини бораго лікарського і проведення процесу при заданих параметрах забезпечує одержання ефективного засобу у формі рослинного екстракту з вираженою фармакологічною активністю, обумовленою комплексом біологічно активних речовин, вилучених саме таким способом, причому заявлений спосіб є простим і економічно доцільним при промисловому здійсненні.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з мембраностабілізуючою та протизапальною дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини спиртом етиловим при кімнатній температурі протягом 12 годин з подальшим об'єднанням одержаних екстрактів, фільтрацією та упарюванням, згідно з винаходом передбачені такі особливості: екстракції піддають бораго лікарський (*Borago officinalis* L.), екстракцію здійснюють 41-45 % спиртом етиловим при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:15, а об'єднаний екстракт додатково відстоюють протягом 12 годин.

Винаходом також передбачено, що як рослинна сировина може бути використана трава бораго лікарського або його листя або їх суміш у рівній кількості.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом.

Пошук нових видів рослин з заданою біологічною активністю дозволяє одержувати з них засоби, які розширюють арсенал існуючих лікарських препаратів і сприяють здійсненню індивідуального підходу для лікування хворих. Як рослинної сировини для заявленого способу авторами було вибрано бораго лікарський (*Borago officinalis* L.) [4]. Народна медицина визнає бораго лікарський як засіб, що має сечогінні, потогінні, протизапальні, пом'якшувальні та легкі послаблюючі властивості, він позитивно впливає на обмін речовин, регулює роботу серця, зміцнює нервову систему, збуджує апетит. Авторами вперше було виявлено мембраностабілізуючу дію бораго лікарського, невідому з джерел інформації. Бораго лікарський є неофіційною рослиною і не використовується у офіційних лікарських препаратах. У народній медицині його застосовують у формі водних настоїв, одержаних шляхом заливання окропом у певних пропорціях квіток або трави бораго лікарського. Одержані таким способом настої не підлягають

зберіганню, не забезпечують точного дозування і достатньої ефективності комплексу біологічно активних речовин (БАР), вилучених з сировини.

Авторами запропоновано новий спосіб, який дозволяє вичерпно екстрагувати з даної сировини саме ті БАР, які мають виражену комплексну мембраностабілізуючу та протизапальну дію. Одержаний за заявленим способом засіб у формі рідкого або густого, або сухого екстракту може бути рекомендований для профілактики і лікування запальних процесів шлунково-кишкового тракту, бронхів, нирок та шкіри, засіб не має побічних негативних ефектів та протипоказань для застосування. Такий засіб може бути використаний безпосередньо у формі екстракту або в інших лікарських формах для місцевого та орального застосування: кремів, мазей, гелів, супозиторіїв, аерозолів, таблеток, капсул, драже тощо.

Для здійснення заявленого способу вибір екстрагенту, співвідношення сировини з екстрагентом, часу екстракції було зроблено за результатами численних експериментів.

Дослідним шляхом було визначено, що оптимальним екстрагентом для бораго лікарського є 41-45 % спирт етиловий, який додатково забезпечує достатній термін зберігання отриманого екстракту. Саме такий екстрагент у сукупності з рештою параметрів заявленого способу, а саме, трикратною екстракцією сировини при загальному співвідношенні сировини:екстрагент 1:15 і тривалості кожної екстракції принаймні 12 годин при кімнатній температурі забезпечує вичерпне вилучення з вибраної сировини комплексу БАР, який має виражену мембраностабілізуючу та протизапальну дію.

Додатково передбачене відстоювання перед фільтрацією об'єднаного екстракту протягом 12 годин забезпечує осідання механічних домішок та баластних речовин і сприяє підвищенню чистоти кінцевого продукту.

Авторами визначено, що засіб з ефективною мембраностабілізуючою та протизапальною дією може бути одержаний за заявленим способом з трави бораго лікарського або листя або їх суміші у рівних частках. Ступінь фармакологічної активності екстрактів, одержаних з різних частин рослини, є практично однаковим. Вибір як сировини тих чи інших частин рослини також здійснюють, приймаючи до уваги час вегетації рослини (розетка листя - 40 днів, трава - 70-80 днів) та економічність заявленого способу. Економічно доцільнішим, виходячи з маси сировини, є використання трави бораго лікарського, екстракт з якої має дещо вищу протизапальну дію у порівнянні з іншими варіантами.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Подрібнену сировину піддають принаймні трикратній екстракції 41-45 % спиртом етиловим при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:15 та тривалості кожної екстракції 12 годин при кімнатній температурі. Одержані екстракти об'єднують, відстоюють протягом принаймні 12 годин і фільтрують. Засіб у формі рідкого екстракту при необхідності упарюють до густого або сухого стану.

Одержаний екстракт має темно-коричневий колір та гірко-солоний смак. В готовому продукті не менше 20 % сухого залишку в розрахунку на абсолютну суху сировину.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1. 1кг подрібненого листа та трави бораго лікарського залили 8,6 л 41 % спирту етилового (першу порцію екстрагенту збільшено з урахуванням коефіцієнту поглинання сировини) і настоювали при кімнатній температурі 12 годин. Екстракт злили у приймач. Процес повторили ще двічі порціями по 5 л екстрагенту. Загальне співвідношення сировина: екстрагент склало 1:15. Одержані екстракти об'єднали, відстоювали протягом 12 годин, профільтрували і упарили до 1 л. Вміст екстрактивних речовин у рідкому екстракті склав 24 %. Вихід готового продукту до сировини 1:1.

Приклад 2. Рідкий екстракт з суміші трави і листа (1:1) бораго лікарського, одержаний за аналогією з прикладом 1, упарили у вакуум-випарювальному апараті до залишкової вологості 24 %. Одержали густий екстракт з вмістом екстрактивних речовин 26 % і виходом готового продукту 31 %.

Приклад 3. Рідкий екстракт з листа бораго лікарського, одержаний за аналогією з прикладом 1, упарили у вакуум-випарювальному апараті до залишкової вологості 24 % і висушили до сипкого стану. Одержали сухий екстракт з вмістом екстрактивних речовин 26 % і виходом готового продукту 20 % від повітряно сухої сировини.

Приклад 4. Мембраностабілізуючу дію засобу, одержаного за заявленим способом у формі густого екстракту трави бораго лікарського вивчали за допомогою удосконаленого методу Шрека. У пробірки вносили у рівних об'ємах клітинну завись (з концентрацією 240 000 клітин у мл³) та 1 % розчин тетрацикліну гідрохлориду. У контрольну серію додавали рівний об'єм фізіологічного розчину, до дослідної серії - рівний об'єм 2 % розчину густого екстракту (суміш трави та листа 1:1) бораго лікарського. Час експозиції становив 15 хвилин. Було використано модель, на тлі якої тестувався 2 % розчин препарату порівняння - есенціале, який має виражену цитопротекторну, зокрема мембраностабілізуючу дію.

Мембраностабілізуючу дію у порівнянні з контрольним дослідом кількісно визначали за формулою:

$$X = \frac{(A - B) \cdot 100}{C},$$

де А - кількість живих клітин при додаванні розчину субстанції та тетрацикліну гідрохлориду у %,

В - кількість живих клітин у досліді з розчином тетрацикліну гідрохлориду у %,

С - кількість живих клітин в контрольному досліді у %. Результати дослідів наведені в табл.1.

Вивчення мембраностабілізуючої дії одержаного за заявленим способом густого екстракту трави бораго лікарського (m=5)

Об'єкт	Кількість живих клітин, %	Мембраностабілізуюча дія, %
контроль	99,00±0,88	-
1 % розчин тетрацикліну гідрохлориду	49,80±1,84	-
2 % розчин густого екстракту (суміш трави та листа 1:1)	65,40±2,58	15,76
2 % розчин густого екстракту трави	64,60±3,58	14,95
2 % розчин есенціале	73,20±2,39	23,20

Аналіз даних табл.1 свідчить, що екстракт листа та трави бораго лікарського проявляє виражену мембраностабілізуючу дію (15,76 %), дещо поступаючись препарату порівняння есенціале, який поряд з есенціальними фосфоліпідами (дигліцеринові ефіри холінфосфорної кислоти та ненасичені жирні кислоти) містить суміш вітамінів і є комплексним препаратом.

Приклад 5. Вивчення протизапальної дії засобу, одержаного за заявленим способом у формі густого екстракту суміші трави та листа (1:1) бораго лікарського, проводили на моделі карагенінового набряку у щурів. Густий екстракт розчиняли у воді для ін'єкцій та вводили внутрішньощлунково у дозі 25 мг/кг. Як препарат порівняння використано диклофенак натрію, який вводили внутрішньом'язово у дозі 8 мг/кг, яка є дозою ЕД₅₀ за протизапальною активністю. Обидва препарати вводили за 1 годину до індукції запалення з розрахунку 1 мл на 100 г маси тварини. Контрольним тваринам вводили еквівалентну кількість води.

Гостре асептичне запалення відтворювали введенням 1 % розчину карагеніну у одну з задніх лапок тварин згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України з доклінічного вивчення лікарських засобів [5]. Флогенні агенти вводили щурам субплантарно в об'ємі 0,1 мл на тварину через 1 год. після введення досліджуваних препаратів.

Вимірювання величини набряку лап у щурів проводили за допомогою механічного онкометра за Захаревським А. С. у динаміці: через 1, 2, 3, 6 годин після введення карагеніну.

Протизапальну активність при гострому ексудативному запаленні визначали за антиексудативним ефектом - здатністю зменшувати розвиток набряку у порівнянні з групою контрольної патології і розраховували за наступною формулою:

$$A = 100 - \frac{(M_0 - M_3) \cdot 100}{M_0^k - M_3^k},$$

де

А - протизапальна активність, %;
 M_0 - об'єм набряклої лапи у досліді (у лікованих тварин);

M_3 - об'єм здорової лапи у досліді;

M_0^k - об'єм набряклої лапи у контролі (у не лікованих тварин);

M_3^k - об'єм здорової лапи у контролі.

Результати дослідів наведено у таблиці 2.

У групі контрольної патології (вводили тільки карагенін) максимум набряку лапи у порівнянні з початковим об'ємом спостерігався протягом четвертої і шостої години після введення флорогенного агента.

Протягом першої години після введення карагеніну кращу протизапальну активність проявив диклофенак натрію (63,3 %), густі екстракти суміші трави і листя та трави таку активність майже не проявили. Протягом другої години диклофенак натрію проявив найвищу протизапальну активність

- 79,8 %, з третьої по шосту годину протизапальна активність диклофенаку натрію знизилась до 12,5 %. Густий екстракт суміші трави і листя протягом другої та третьої години проявив найвищу протизапальну активність - 58,3 % та 53,7 % відповідно. Протягом шостої години дана активність зменшилась у 1,4 рази (39,8 %). Густий екстракт трави протягом другої години проявив протизапальну активність на 66,1 %, а протягом наступної години цей показник зменшився до 60,9 %. На четверту годину протизапальна активність екстракту складала 35,8 %, що в 1,8 рази менше у порівнянні з другою годиною. За результатами, отриманими на даній моделі запалення, визначено значення середньої протизапальної активності (за шість годин). Густий екстракт суміші трави і листя за показником протизапальної активності (40,2 %) незначно поступався диклофенаку натрію (50,9 %).

Таблиця 2

Визначення протизапальної (антиексудативної) активності густих екстрактів листя (суміш з травою 1:1) та трави бораго лікарського на моделі карагенінового набряку у щурів

Групи тварин	Доза,	Початковий	Об'єм лапи (в умовних одиницях)/антиексудативна активність (у %) протягом					
	мг/кг	об'єм лапи (в умовних одиницях)	1 години	2 годин	3 годин	4 годин	6 годин	середня (за 6 годин)
Контрольна патологія		61,0±1,2	70,8±1,8	83,6±2,1	86,8±2,4	92,2±1,9	95,2±3,4	-
Густий екстракт листя (суміш з травою 1:1)	25	54,2±2,4	<u>61,2±2,4</u> 17,9	<u>60,8±2,8*</u> 58,3	<u>63,0±2,5*</u> 53,7	<u>71,8±3,6*</u> 31,5	<u>69,8±3,0*</u> 39,8	40,2
Густий екстракт трави	25	61,6±2,9	<u>69,4±2,3*</u> 20,3	<u>69,2±2,2</u> 66,1	<u>71,4±3,4*</u> 60,9	<u>81,4±2,3*</u> 35,8	<u>79,2±2,8*</u> 45,1	45,6
Диклофенак натрію	8	45,8±1,3	<u>50,2±2,9*</u> 63,3	<u>50,0±4,8*</u> 79,8	<u>57,9±4,5*</u> 63,9	<u>65,2±2,5*</u> 34,7	<u>66,7±2,8*</u> 12,5	50,9

Примітка: * - відхилення показника достовірне по відношенню до контрольної патології.

Проведені дослідження дозволяють зробити висновок про виражену мембраностабілізуючу та протизапальну дію засобу, одержаного за заявленим способом, та перспективність подальших робіт по створенню лікарських засобів у різних лікарських формах на його основі. З метою забезпечення індивідуального підходу до вибору способів використання та очікуваного результату від застосування засобу, одержаного за заявленим способом, даний засіб може бути виконаний у різних лікарських формах: мазі, креми, гелі, аерозолі, таблетки, супозиторії тощо.

Заявлений спосіб здійснюють за простою технологією у стандартних промислових умовах з вітчизняної доступної сировини.

Засіб, одержаний за заявленим способом, завдяки мембраностабілізуючим та протизапальним, зокрема протинабряковим, властивостям може бути використаний при лікуванні запальних процесів різної етіології, наприклад, гастритів та колітів, нефритів, бронхітів, гноячкових висипів шкіри, піо-

дермітів, екземи, ревматичних болей і т. і., а також може бути рекомендований до застосування у косметології як засіб, що, зокрема, сприяє підвищенню пружності шкіри.

Джерела інформації

1. Патент на винахід 77347, Україна, МПК (2006) А61К 36/185, А61К 127/00 (2006.01), А61Р 29/00, А61Р 31/00, А61Р 13/00, заявл. 26.04.2005, опубл. 15.11.2006, Бюл. №11.

2. Деклараційний патент на винахід 69626, Україна, МПК 7 А61К 35/78, заявл. 21.10.2003, опубл. 15.09.2004, Бюл. № 9.

3. Патент на винахід 85927, Україна, МПК А61К 36/28 (2006.01), А61К 125/00 (2006.01), А61К 127/00 (2006.01), заявл. 06.06.2007, опубл. 10.03.2009, Бюл. №5.

4. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник. За ред. А.М.Гродзінського, Київ, Головна редакція Української радянської енциклопедії ім. М.П. Бажана, 1991. – С. 304.

5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / [за ред. членкор. АМН України О. В. Стефанова]. - К.: Авіцена, 2001. – С. 311-320.

