



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **106064** (13) **C2**

(51) МПК (2014.01)

A61K 36/28 (2006.01)**A61P 7/10** (2006.01)**A61P 29/00**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер заявки: а 2011 10542	(72) Винахідник(и): Волочай Вікторія Іванівна (UA), Ковальов Володимир Миколайович (UA), Самура Борис Андрійович (UA), Таран Андрій Вікторович (UA), Ніколаєв Владислав Олександрович (UA), Краснікова Тетяна Олександрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 31.08.2011	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.07.2014	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 95567 C2, 10.08.2011. UA 51242 U, 12.07.2010. RU 2123349 C1, 20.12.1998. UA 96639 C2, 25.11.2011. UA 73209 C2, 15.06.2005. UA 83557 C2, 25.07.2008. UA 76063 C2, 15.06.2006. UA 31446 U, 10.04.2008.
(41) Публікація відомостей про заявку: 11.03.2013, Бюл.№ 5	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2014, Бюл.№ 14	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ДІУРЕТИЧНОЮ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ**(57) Реферат:**

Винахід належить до способу одержання комплексу біологічно активних речовин з діуретичною та протизапальною активністю шляхом неодноразової екстракції рослинної сировини гарячою водою з подальшим об'єднанням відфільтрованих екстрактів, упарюванням, осадженням спиртом етиловим і сушінням відфільтрованого осаду, де як рослинну сировину використовують траву галінсоги дрібноквіткової (*Galinsoga parviflora* Cav.), екстракцію здійснюють при постійній температурі 85-90 °С тричі по одній годині, причому першу екстракцію проводять при співвідношенні сировина:екстрагент 1:12, другу та третю - при співвідношенні 1:10, а об'єднаний екстракт концентрують до 1/10 початкового об'єму та висаджують чотирикратною кількістю 96 % спирту етилового.

UA 106064 C2

Винахід належить до фармації та медицини, а саме до способів одержання засобів рослинного походження, зокрема комплексу біологічно активних речовин з діуретичною та протизапальною активністю, який може бути використаний як активна субстанція при створенні лікарських препаратів для лікування та профілактики захворювань сечовидільної системи.

Терапія урологічних захворювань передбачає тривале застосування лікувальних засобів. У цьому випадку доцільне використання препаратів рослинного походження, які, на відміну від синтетичних, практично не мають побічної дії, як правило не викликають алергічної реакції, є не токсичними і придатними до тривалого застосування без формування залежності. Сучасний ринок діуретичних засобів представлений переважно препаратами синтетичного походження. Перелік препаратів рослинного походження досить обмежений. Тому проблеми створення нового комплексу біологічно активних речовин з діуретичною та протизапальною активністю є достатньо актуальною.

Існують різні способи одержання з рослинної сировини комплексу біологічно активних речовин, які мають діуретичну та протизапальну дію у комплексі з іншими видами фармакологічної активності.

Відомий спосіб одержання суми поліфенолів з антимікробною, протизапальною та діуретичною активністю [1], який передбачає екстракцію суплідь душекії зеленої 70 % спиртом етиловим при співвідношенні сировина:екстрагент 1:9-1:11 протягом 13-15 годин. Екстракцію проводять за наведених умов тричі, упарюють і обробляють етилацетатом при співвідношенні сумарний екстракт:етилацетат 1:2 і сушать. Вихід готової продукції складає 5,62 %.

До недоліків зазначеного способу можна віднести значні витрати і високу концентрацію екстрагента - спирту етилового, а також необхідність проведення додаткової обробки упареного екстракту етилацетатом (виявляє наркотичну дію, його пари подразнюють слизові оболонки очей та дихальних шляхів, при дії на шкіру може викликати дерматити та екземи) та низький вихід готового продукту.

Відомий спосіб одержання засобу з протизапальною та діуретичною дією із трави чумизи [2], який передбачає екстракцію сировини 10 % спиртом етиловим при співвідношенні сировина:екстрагент (1:6)-(1:7) протягом 8-10 годин. Екстракцію повторюють 5-7 разів. Отримані екстракти об'єднують і упарюють до 1/18-1/20 попереднього об'єму. В результаті здійснення заявленого способу одержують засіб у формі рідкого екстракту темно-коричневого кольору, з приємним запахом, ледь гіркуватим смаком з наступними технологічними та аналітичними параметрами: питома вага - 1,1 г/см³, сухий залишок - 24,0 %, вміст спирту етилового - 0,45 %.

До недоліків вище наведеного способу можна віднести значні витрати екстрагенту, довготривалість та багатостадійність процесу. Як продукт одержують рідкий екстракт, який містить значну кількість баластних речовин, що ускладнює його зберігання. Крім того, залишковий вміст етанолу обмежує його застосування рядом пацієнтів.

Відомий також спосіб виділення біологічно активних речовин (БАР) з кори осики, які виявляють антимікробну, репаративну, протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність [3], що передбачає одержання двох екстрактів ліпофільної та фенольної природи, причому перший одержують екстракцією сировини хлорорганічним розчинником у співвідношенні сировина:екстрагент 1:8 з подальшим упарюванням фільтрату. Другий (фенольний) комплекс отримують екстракцією знежиреної сировини гарячою водою тричі протягом 30 хвилин з об'єднанням водних екстрактів з наступним упарюванням і сушінням.

До недоліків такого способу можна віднести його багатостадійність, використання екологічно небезпечних хлорорганічних розчинників при одержанні ліпофільного комплексу та необхідність попереднього знежирення сировини при одержанні фенольного комплексу.

Відомо багато способів одержання комплексів БАР рослинного походження з наявністю протизапальної активності у спектрі загальної фармакологічної дії шляхом водної екстракції сировини. Найближчим до заявленого способу за сукупністю технологічних ознак є спосіб одержання комплексу полісахаридів гемостатичної та протизапальної дії [4] шляхом двократної екстракції листя акації білої гарячою водою при співвідношенні сировина:екстрагент 1:14-15 протягом 2-3 годин з подальшим упарюванням сумарного екстракту до 1/15 попереднього об'єму, осадженням трикратною кількістю спирту етилового 95 %, відокремленням осаду, його сушінням та подрібненням. Вихід готового продукту - 5,5-7 % від повітряно сухої сировини.

Недоліком наведеного способу можна вважати відсутність діуретичної активності у комплексній фармакологічній дії та низький вихід цільового продукту.

Зважаючи на вище наведені недоліки задачею винаходу є створення економічно доцільного способу отримання комплексу біологічно активних речовин рослинного походження, що виявляє діуретичну та протизапальну активність.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання комплексу біологічно активних речовин з діуретичною та протизапальною активністю шляхом неодноразової екстракції рослинної сировини гарячою водою з подальшим об'єднанням відфільтрованих екстрактів, упарюванням, осадженням спиртом етиловим і сушінням відфільтрованого осаду, корисною моделлю передбачено, що як рослинну сировину використовують траву галінсоги дрібноkwіткової (*Galinsoga parviflora* Cav.), екстракцію здійснюють при постійній температурі 85-90 °С тричі по одній годині, причому першу екстракцію проводять при співвідношенні сировина: екстрагент 1:12, другу та третю - при співвідношенні 1:10, а об'єднаний екстракт концентрують до 1/10 початкового об'єму та осаджують чотирикратною кількістю 96 % спирту етилового.

Всі параметри заявленого способу визначено експериментальним шляхом з урахуванням біологічної активності одержаних комплексів, ефективності, доступності та нешкідливості реактивів, практичного відтворення способу у промислових умовах.

Галінсога дрібноkwіткова (*Galinsoga parviflora* Cav.) - неофіційальна рослина, проте її застосовують у народній медицині. Траву використовують, як кровоспинний, ранозагоювальний, протицинготний, гіпотензивний та маточний засіб, її жують при стоматитах, гінгівітах, пошкодженнях слизової оболонки ротової порожнини. Крім того коріння вважають жарознижуючим засобом. Експериментально підтверджена маточна дія препарату, вплив на атеріальний тиск не відмічено [5].

Авторами вперше було досліджено діуретичну та протизапальну дію трави галінсоги дрібноkwіткової не відому з джерел інформації.

Дослідним шляхом було визначено, що оптимальним екстрагентом для вилучення суми полісахаридів є вода. Саме такий екстрагент при загальному співвідношенні сировини до екстрагента 1:32 і трикратній екстракції протягом години при постійно підтримуваній температурі 85-90 °С забезпечує інтенсифікування процесу екстрагування, що дозволяє максимально вилучати з сировини цільовий комплекс БАР. Крім того, такий екстрагент вигідний з боку технологічних вимог до здійснення способу, бо є доступним, дешевим та екологічно безпечним.

Сумарне співвідношення сировини до екстрагента 1:32 встановлено експериментально та є оптимальним для вибраної сировини. Перший етап екстракції здійснюють при співвідношенні сировина: екстрагент 1:12 (з урахування коефіцієнту водопоглинання сировини, $K=2,0$), другий - при співвідношенні 1:10. Менша кількість екстрагенту на кожному етапі не дозволяє ефективно провести екстракцію, а більша кількість є нераціональною, тому, що повна екстракція досягається заявленою кількістю екстрагента.

Згідно з заявленим способом об'єднаний екстракт упарюють до 1/10 об'єму. Концентрування саме до такого об'єму є раціональним, оскільки це зменшує витрати в наступній стадії 96 % етанолу та отриманий розчин має оптимальну густину, що попереджує адсорбцію на суму полісахаридів супутніх речовин.

Співвідношення для відокремлення суми полісахаридів екстракт: етанол 96 % 1:4 встановлено експериментальним шляхом. Збільшення кількості спирту не призводить до значного підвищення виходу цільового продукту, а при зменшенні не досягається повне осадження суми полісахаридів.

В результаті здійснення заявленого способу одержують комплекс БАР-аморфний порошок світло-сірого кольору, розчинний у воді та не розчинний в органічних розчинниках. Його вихід складає 10-13 %.

Авторами вперше запропоновано використання трави галінсоги дрібноkwіткової для одержання комплексу біологічно активних сполук з діуретичною та активністю.

Заявлений спосіб є новим, невідомим з джерел інформації і здійснюється наступним чином. Висушену і подрібнену траву галінсоги дрібноkwіткової піддають трикратній екстракції водою при загальному співвідношенні сировина:екстрагент 1:32 та загальній тривалості екстракції - 3 години при температурі 85-90 °С. Першу екстракцію здійснюють при співвідношенні сировина: екстрагент 1:12 протягом 1,0 годин, другу та третю - 1:10 протягом 1,0 години. Одержані водні екстракти об'єднують, відфільтровують, концентрують до 1/10 початкового об'єму, осаджують суму біологічно активних речовин 96 % етанолом у співвідношенні екстракт: спирт 1:4 і відфільтрований осад висушують при температурі 95-100 °С. Вихід готового продукту становить 10-13 % в перерахунку на повітряно суху сировину.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1. 1,0 кг подрібненої повітряно-сухої трави галінсоги дрібноkwіткової заливають 12,0 л гарячої води і екстрагують при перемішуванні та постійно підтримуваній температурі 85-90 °С протягом 1,0 годин. Екстракцію повторюють двічі 10,0 л води протягом 1 години. Одержані екстракти об'єднують, відфільтровують та концентрують до 3,0 л. До упареного екстракту порціями при постійному перемішуванні додають 12,0 л 96 % етанолу. Отриманий осад

відфільтровують та висушують при температурі 95-100 °C. Вихід готового продукту становить 127,0 г тобто 12,7 %.

Приклад 2. Вивчення діуретичної активності комплексу БАР, одержаного за заявленим способом, проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар вагою 170-190 г у дослідах за методом Є.Б. Берхіна [6]. За 4 дні до початку вивчення впливу діуретичної активності тварин переводили на постійний режим харчування, доступ до води не обмежували.

Досліджуваний комплекс БАР у вигляді водного розчину та препарат порівняння - настій трави хвоща польового, вводили перорально внутрішньошлунково у дозі 1/100 від ЛД₅₀ та 3 мл/100 г відповідно. Через 30 хвилин усі тварини одержували водне навантаження через шлунковий зонд, яке складало 3 % від маси тіла тварини. Після ведення речовин тварин поміщали в "обмінні клітки" для збору сечі та реєстрували діурез через 4 години.

За показник інтенсивності сечовиділення приймали кількість сечі, виділеної твариною за 4 години у перерахунку на 100 г її маси. Кількість сечі, виділеної тваринами контрольної групи, що одержували тільки водне навантаження, приймали за 100 %.

Результати експерименту наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення діуретичної активності комплексу БАР трави галінсоги дрібноквіткової, одержаного за заявленим способом.

№ п/п	Досліджуваний зразок	Діурез, за 4 години	
		M±m	% до контролю
1	Комплекс БАР з трави галінсоги дрібноквіткової	5,96±0,11	189,8
2	Настій трави хвоща польового, 3 мл/100г	4,82±0,13	153,5
3	Контроль	3,14±0,12	100

Примітка: M±m - об'єм сечі, мл

Аналіз результатів показав, що комплекс біологічно активних речовин галінсоги дрібноквіткової має виражену діуретичну дію. Він стимулює діяльність нирок у щурів та підвищує водний діурез на 89,8 %, та за активністю перевищує дію настою з трави хвоща польового на 36,3 %.

Приклад 3. Дослідження протизапальної дію комплексу БАР одержаного за заявленим способом, проводили на білих щурах лінії Вістар на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням в задню лапку 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [7]. Об'єм лапки вимірювали за допомогою гідростатичного онкометра до початку досліду та у момент максимального розвитку набряку (через 4 години). Досліджуваний комплекс БАР вводили у вигляді водних розчинів внутрішньошлунково у дозах 1/100 від ЛД₅₀ одноразово, за 30 хвилин до введення флогогенного агента. Отримані результати наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Вивчення протизапальної активності комплексу БАР трави галінсоги дрібноквіткової, одержаного за заявленим способом.

№ п/п	Досліджувані речовини	Пригнічення запального набряку		
		Об'єм лапки через 4 години, мл	% до контролю	Протизапальна активність, %
1	Комплекс БАР з трави галінсоги дрібноквіткової	1,71±0,09	73,1	26,9
3	Контроль	2,34±0,07	100	-

Одержані результати свідчать, що комплекс біологічно активних речовин галінсоги дрібноквіткової виявляє протизапальну активність, достовірно зменшуючи експериментальний набряк у щурів на 26,9 %.

Приклад 4. Вивчення гострої токсичності комплексу БАР, одержаного за заявленим способом, проводили на білих нелінійних мишах обох статей, вагою 21-24 г по п'ять тварин у кожній серії. Комплекс БАР галінсоги дрібноквіткової у вигляді водного розчину, об'ємом не

більше 1 мл, вводили одноразово внутрішньочеревинно. Тварин утримували на стандартному кормовому раціоні. Спостереження за ними проводили протягом 14-ти днів. Кількість тварин, що вижили та загинули реєстрували через кожні 24 години, а ЛД₅₀ вираховували за методом Кьорбера.

5 В результаті дослідження встановлено, що LD50 досліджуваного комплексу БАР становить 4525 мг/кг, що дає змогу віднести цю субстанцію, до практично нетоксичних сполук.

Таким чином, заявлено спосіб одержання комплексу БАР з трави галінсоги дрібноквіткової, який проявляє протизапальну та діуретичну активність, є практично нетоксичним і придатним до тривалого застосування для лікування та профілактики захворювань сечовидільної системи.

10 Заявлений спосіб простий і може бути здійснений на звичайному хіміко-фармацевтичному підприємстві з використанням стандартного обладнання. Спосіб передбачає використання доступної сировини і забезпечує промислове доцільний вихід готового продукту, який може бути використаний в якості активної діючої субстанції у складі фармацевтичних препаратів різних лікарських форм.

15 Джерела інформації:

1. Патент на винахід 76063, Україна, МПК (2006) А61К36/185, А61Р31/00, заявл. 04.01.2005, опубл. 15.06.2006, Бюл. №6.

2. Патент на корисну модель 31446, Україна, МПК(2006) А61К36/00, А61Р 31/00, заявл. 29.11.2007, опубл. 10.04.2008, Бюл. № 7.

20 3. Патент на винахід 73209, Україна, МПК 7А61К 35/78, заявл. 19.05.2003, опубл. 15.06.2005, Бюл. №6.

4. Патент на винахід 83557, Україна, МПК (2006) А61К36/483(2008.01) А61К127/00(2008.01) А61Р7/04(2008.01) А61Р29/00, заявл. 19.10.2006, опубл. 25.07.2008, Бюл. №14.

25 5. Фруентов Н. К. Лекарственные растения Дальнего Востока / Фруентов Н. К. -Хабаровск: Кн.изд-во, 1987. -С. 33-34.

6. Берхин Е.Б. Методы изучения новых химических соединений на функции почек // Хим. - фарм. журнал.-1997. - Т. 11, № 5 - С. 3-11.

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

30

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з діуретичною та протизапальною активністю шляхом неодноразової екстракції рослинної сировини гарячою водою з подальшим об'єднанням відфільтрованих екстрактів, упарюванням, осадженням спиртом етиловим і сушінням відфільтрованого осаду, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують траву галінсоги дрібноквіткової (*Galinsoga parviflora* Cav.), екстракцію здійснюють при постійній температурі 85-90 °С тричі по одній годині, причому першу екстракцію проводять при співвідношенні сировина:екстрагент 1:12, другу та третю - при співвідношенні 1:10, а об'єднаний екстракт концентрують до 1/10 початкового об'єму та висаджують чотирикратною кількістю 96 % спирту етилового.

35

40

Комп'ютерна верстка О. Рябко

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