



УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВО(19) **UA** (11) **14932** (13) **C1**(51) <sup>6</sup> C 11 B 1/10; A 61 K 7/00, A 61 K 35/55,  
A 61 K 31/685, A 61 K 31/00

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО КОМПЛЕКСУ ЛІПІДІВ ДЛЯ ЗАСТОСУ-  
ВАННЯ В КОСМЕТИЧНИХ КРЕМАХ І ЛІКУВАЛЬНИХ МАЗЯХ

1

2

(21) 96010085

(22) 10.01.96

(24) 12.11.99

(46) 12.11.99. Бюл. № 7

(56) Авторское свидетельство СССР №  
1836091, кл. А 61 К 35/24//31/685, опуб-  
лик. 1993.(72) Костенко Юрій Веніамінович, Павлій  
Наталія Миколаївна(73) Костенко Юрій Веніамінович, Павлій  
Наталія Миколаївна(57) Способ получения биологически ак-  
тивного комплекса липидов для примене-

ния в косметических кремах и лечебных  
мазях, включающий измельчение вилоч-  
ковой железы крупного рогатого скота,  
гомогенизацию ее в водном растворе,  
центрифугирование с выделением флотир-  
ующей фракции и экстракцию липидов  
органическим растворителем, отлича-  
ющийся тем, что жировую фракцию,  
полученную на стадии центрифугирова-  
ния, экстрагируют в одну стадию гекса-  
ном в соотношении 1:5-7 и из гексаново-  
го раствора после концентрации и филь-  
трации получают липидный комплекс.

Изобретение относится к фармацев-  
тической и парфюмерно-косметической  
промышленности. Комплекс липидов, по-  
лученный заявляемым способом, может  
быть использован как компонент, спо-  
собствующий регенерации клеток эпите-  
лия.

Известны способы получения липидов  
и их комплексов путем экстракции орга-  
ническими растворителями из различных  
источников сырья.

Наиболее близким к заявляемому по  
технической сущности является способ по-  
лучения комплекса липидов "Тимихол" из  
животного сырья.

Этот способ предусматривает получе-  
ние комплекса липидов из вилочковой же-  
лезы КРС с применением двух органи-  
ческих растворителей.

Сырье после измельчения гомогени-  
зируют в физиологическом растворе, цент-

рифугируют, флотирующую фракцию су-  
пернатанта экстрагируют изопропанолом,  
дополнительно центрифугируют и осадок,  
содержащий целевой продукт, растворяют  
в гексане.

Экстракцию супернатанта изопропа-  
нолом и растворение осадка в гексане  
проводят в соотношении 1:5-10.

Полученный по способу-прототипу  
комплекс содержит, мас. %:

Глицериды	30,0-45,0
-----------	-----------

Глицерофосфаты (фосфолипиды)	40,0-70,0
---------------------------------	-----------

Холестерин (в сво- бодном и этерифици- рованном состоянии)	1,5-4,0
--	---------

Неомыляемые вещества	3,0-5,0
----------------------	---------

Жирные насыщенные кислоты в мас-  
совом отношении к ненасыщенным сос-  
тавляют 2:1.

(19) **UA** (11) **14932** (13) **C1**

К недостаткам прототипа следует отнести получение липидного комплекса в две стадии. Кроме того, полученный комплекс имеет жидкую консистенцию, что обусловлено большим содержанием фосфолипидов (до 70%), чем глицеридов (30%). Такая консистенция менее приемлема для использования в качестве жировой основы в косметических кремах и лечебных мазях.

В основу изобретения поставлена задача разработать способ получения биологически активного липидного комплекса из вилочковой железы крупного рогатого скота (КРС), позволяющий путем проведения экстракции липидов из флотирующей фракции гексаном в одну стадию получить фракцию с большим содержанием жира, упростить технологию и расширить спектр биологического действия получаемого липидного комплекса.

Для этого в способе получения биологически активного комплекса липидов, включающем измельчение вилочковой железы КРС, гомогенизацию ее в водном растворе, центрифугирование с выделением флотирующей фракции и экстракцию липидов органическим растворителем, жировую фракцию, полученную на стадии центрифугирования, экстрагируют в одну стадию гексаном в соотношении 1:5-7 и из гексанового раствора липидов после концентрации и фильтрации получают липидный комплекс.

Полученный комплекс липидов содержит следующие компоненты в мас. %:

Глицериды	40-50
Глицерофосфатиды (фосфолипиды)	40-50
Жирные кислоты	5-10
Неомыляемые вещества	2-9
Холестерин	1-4

Массовое соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот 2,5:1,0.

В табл. 1 приведен состав фосфолипидов, входящих в липидные комплексы, полученные по заявляемому способу и по способу-прототипу.

Состав комплекса, полученный заявляемым способом, обогащен фосфатидилхолином, за счет чего усиливаются его эмульгирующие свойства и обеспечивается нужная для кремов и мазей консистенция.

Заявляемый способ исключает экстракцию липидов изопропанолом, что упрощает процесс, а проведение экстракции гексаном позволяет обогатить комплекс глицеридами и фосфолипидами, не-

насыщенными жирными кислотами, что способствует улучшению эмульгирующих свойств комплекса и расширяет спектр его биологического действия.

Синергетическое действие триглицеридов, фосфолипидов и жирных кислот обеспечивает противовоспалительное, смягчающее и регенерирующее действие полученного комплекса, что подтверждается испытаниями его биологической активности.

Способ осуществляют следующим образом.

**Пример 1.** 10 кг вилочковой железы измельчают на мясорубке, гомогенизируют в 20 л физиологического раствора, центрифугируют 30 мин при 3000 об/мин и температуре 4°C. Полученную флотирующую фракцию липидов (верхний слой в центрифужном стакане) собирают для дальнейшей очистки. Осадок может быть использован для выделения препарата ДНК, а супернатант — для производства препарата типа "Вилозен". Липидную фракцию повторно центрифугируют 15 мин при 3000 об/мин для максимального удаления влаги. После центрифугирования 3,5 кг липидов загружают в стеклянный реактор и заливают гексаном в соотношении 1:5, т.е. 17,5 л гексана. Экстракцию липидов проводят при 40°C и перемешивании в течение 2 ч. После отделения гексанового раствора липидов его концентрируют вакуумной отгонкой, фильтруют и сушат до получения целевого продукта.

**Примеры 2 и 3.** Операции осуществляются в той же последовательности, изменяется только соотношение липидной фракции и гексана и температура экстракции.

В табл. 2 приведены условия осуществления способа (примеры 1, 2, 3), а в табл. 3 — составы полученных липидных комплексов.

В табл. 4 приводятся данные по заживлению нарушений эпителия кожи при бритье после обработки комплексом, полученным по заявляемому способу и по способу-прототипу.

Противовоспалительное действие комплекса, полученного заявляемым способом, иллюстрируется табл. 5.

На объем лапки животного наносится 0,1 мл 1%-ного раствора формалина, который уже через 1 ч вызывает увеличение объема лапки. Затем на лапку наносят липидный комплекс, и через определенное время объем лапки восстанавливается до первоначального.

Как видно из табл. 5, противовоспалительное действие комплекса проявляется уже через 1 ч у 3 опытных животных из 5, а через 3 ч восстанавливается первоначальный объем лапки, т.е. полностью устраняется воспалительная реакция кожи, вызванная действием формалина.

Изучение влияния комплекса, полученного заявляемым способом, и комплекса, полученного по способу-прототипу, на процессы репаративной регенерации проводили на 21 белой крысе обоего пола массой 200–230 г.

У крыс на спине депилировали участок кожи. Спустя 3 дня под эфирным наркозом иссекали участок кожи с подкожной клетчаткой размером 2 x 2 см (400 мм<sup>2</sup>). Крысы были распределены на 3 группы по 7 в каждой. Одна группа служила контролем, вторая и третья получали наружно соответственно комплексы, полученные заявляемым способом и способом-прототипом, путем нанесения на раневую поверхность 1 раз в день. На 10, 15, 20 день лечения проводили измерения площадей ран. Был определен средний срок

полного закрытия раны и процент ускорения заживления по отношению к контрольной группе животных, не получавших лечения.

5 Результаты ранозаживляющей активности липидных комплексов приведены в табл. 6.

10 Как видно из табл. 6, комплекс, полученный по заявляемому способу, ускоряет заживление плоской раны кожи крыс на 30% в сравнении с контролем. Таким образом, этот комплекс стимулирует регенерацию не только эпителиальных клеток кожи, но и клеток мягких тканей.

15 В настоящее время вилочковая железа КРС используется нерентабельно, исключительно как сырье для белковых иммунокорректирующих препаратов типа "Вилозен" и для выделения суммарной ДНК.

20 В процессе производства этих препаратов липидный компонент анализируется. Заявляемый способ позволяет наряду с получением указанных препаратов использовать флотирующую фракцию для получения биологически активного липидного комплекса.

Таблица 1

Фосфолипиды	В комплексе, полученном по заявляемому способу	В комплексе, полученном по способу-прототипу
Фосфатидилхолин	60	45
Фосфатидилэтаноламин	30	45
Офингомиелин	7	5
Фосфатидилинозитол	3	5

Таблица 2

Условия	Пример 1	Пример 2	Пример 3
Липидную фракцию смешивают с гексаном в соотношении	1:5	1:7	1:5
Время экстракции, ч	2	02	2
Температура, °С	40	50	69
Выход целевого продукта по отношению к весу липидной фракции	25	35	30

Таблица 3

Состав	Пример 1	Пример 2	Пример 3
Глицериды	40	40	50
Глицерофосфатиды (фосфолипиды) С	42	45	40
вободные жирные кислоты	8	8	5
Неомыляемые вещества	6	5	4
Холестерин	4	2	1

Т а б л и ц а 4

Комплексы липидов вилочковой железы	Количество полных циклов обработки нарушений эпителия кожи (цикл обработки после бритья 2-3 с, выдержка 15-20 с										Эффект действия
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
По способу- прототипу	*	*	*	*	*	*					Процесс заживления небольших нарушений эпителия кожи после 6 циклов
По заявляемому способу	*	*	*	*							Процесс заживления небольших нарушений эпителия кожи после 4 циклов

Т а б л и ц а 5

Исходный объем лапки	Объем лапки через период времени после нанесения 0,1 мл 1%-ного формалина			Объем лапки через период времени после нанесения комплекса, полученного заявляемым способом		
	1 ч	2 ч	3 ч	1 ч	2 ч	3 ч
3,0	3,2	3,3	3,4			
3,2	3,5	3,6	3,7			
3,1	3,3	3,3	3,5			
3,3	3,4	3,5	3,6			
3,3	3,4	3,4	3,7			
3,0	3,2			3,1	3,1	3,0
3,1	3,3			3,2	3,1	3,1
3,2	3,4			3,4	3,2	3,2
3,0	3,2			3,2	3,1	3,0
3,2	3,5			3,4	3,3	3,2

Т а б л и ц а 6

Комплексы липидов	Площадь раны, мм <sup>2</sup> , по дням наблюдения			Средний срок полного закрытия раны, сут.	Ускорение заживления, % к контролю
	10-й	15-й	20-й		
Контроль	166±9	65±8	36±7	25,0±0,5	—
Комплекс, полу- ченный заявля- емым способом	64±4	42±4	Закрытие раны	17,5±0,5	30,0
Комплекс, полу- ченный по спосо- бу-прототипу	55±4	36±5	Закрытие раны	17,6±0,5	29,6

14932

Упорядник	Техред М. Келемеш	Коректор Л.Пчолинська
-----------	-------------------	-----------------------

Замовлення 522	Тираж	Підписне
----------------	-------	----------

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

