



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **89067** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61K 35/00
A61K 9/08 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 12798	(72) Винахідник(и): Марчишин Світлана Михайлівна (UA), Козир Галина Романівна (UA), Баєв Олексій Олександрович (UA), Васенда Мар'яна Миколаївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 04.11.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2014	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2014, Бюл.№ 7	(73) Власник(и): Марчишин Світлана Михайлівна, вул. Весела, 23, м. Тернопіль, 46002 (UA), Козир Галина Романівна, вул. Стуса, 25, с. Підгороднє, Тернопільський р-н, 47221 (UA), Баєв Олексій Олександрович, вул. Руська, 36, м. Тернопіль, 46001 (UA), Васенда Мар'яна Миколаївна, вул. 22 січня, 13-а, кв. 14, м. Теремовля, 48100 (UA)

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ РОСЛИННОЇ СУБСТАНЦІЇ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА РЕПАРАТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

Спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною та репаративною активністю, зокрема, трави настурції великої (TROPAEOLUM MAJUS L.), що включає технологічний етап екстрагування, причому екстракцію проводять 40 % етиловим спиртом методом перколяції, причому рослинну сировину попереднього замочують і настоюють впродовж доби, при цьому загальне співвідношення сировина:готовий продукт становить відповідно 1:5.

UA 89067 U

Корисна модель стосується фармації і медицини, а саме способів отримання спиртових екстракційних препаратів, зокрема настоек з лікарської рослинної сировини, що характеризуються протизапальною та репаративною активністю.

Відомий спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною та репаративною активністю, що включає етап екстрагування. За відомим способом субстанцію отримують шляхом 6-8-разового екстрагування рослинної сировини 50 % спиртом етиловим при співвідношенні сировини і екстрагенту 1:5-6 упродовж 10-12 годин [1].

Недоліком відомого способу є недостатній рівень його технологічності та трудомісткість, що створює небажані складності технологічного процесу отримання рослинної субстанції і не забезпечує її повною мірою необхідним комплексом біологічно активних речовин, що в свою чергу призводить до зниження фармакологічної активності кінцевого продукту в цілому.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалити відомий спосіб, в якому шляхом зміни технологічного прийому, спрямованого на максимально повне вилучення з рослинної сировини біологічно активних речовин, що дозволить отримати не лише якісно новий лікарський засіб, а і забезпечити його високим вмістом біологічно активних речовин.

При вирішенні технічної задачі було взято до уваги результати попередніх досліджень про вплив екстрагенту, його концентрації, технологічних характеристик рослинної сировини, вибору методу екстрагування та дотримання температурних і часових режимів, а також співвідношення сировина:готовий продукт на якісні та кількісні показники вихідного готового лікарського засобу. Шляхом підбору нами було встановлено, що для отримання настойки з трави настурції великої, з найбільш повним вилученням екстрактивних речовин, сірки та флавоноїдів найкращим методом є перколяція вказаної рослинної сировини 40 % спиртом етиловим. Нами також було вивчено, що трава настурції великої містить біологічно активні речовини: комплекс фенольних сполук (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини), ефірні олії, амінокислоти, органічні кислоти, які характеризуються протизапальною та репаративною властивостями, а отримана настойка трави настурції великої є перспективною для використання як протизапального та репаративного засобу [2, 3].

Виходячи з вищенаведеного, спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною та репаративною активністю, зокрема, трави настурції великої (*TROPAEOLUM MAJUS L.*), що включає технологічний етап екстрагування, відповідно до корисної моделі, екстракцію проводять 40 % етиловим спиртом методом перколяції, причому рослинну сировину попереднього замочують і настоюють впродовж доби, при цьому загальне співвідношення сировина:готовий продукт становить відповідно 1:5.

Вибране співвідношення сировина:готовий продукт 1:5 є необхідним і достатнім для здійснення ефективного процесу екстракції.

Заявлений спосіб здійснюють при кімнатній температурі, що сприяє збереженню екстрагованих термолабільних речовин (ефірних олій) і не потребує додаткових витрат енергоносіїв.

Сукупність ознак, що характеризують заявлений нами спосіб, сприятиме найповнішому вилученню комплексу біологічно активних речовин з вираженою протизапальною та репаративною дією.

Спосіб здійснюють наступним чином. Подрібнену суху рослинну сировину трави настурції великої попередньо замочують достатньою кількістю екстрагенту 40 % етилового спирту, чим стимулюють процес екстрагування та сприяють ефективному вилученню екстрактивних речовин із сировини. Потім набухлу сировину переносять у перколятор, заливають екстрагентом 40 % етиловим спиртом до утворення "дзеркала" над поверхнею, настоюють впродовж однієї доби і перкулюють свіжими порціями екстрагенту до отримання необхідного об'єму. Отриману спиртову витяжку зливають, осад відфільтровують, шрот віджимають. При цьому загальне співвідношення сировина:готовий продукт становить відповідно 1:5. Готовий продукт - настойку упаковують у герметичну тару.

Отримана настойка з трави настурції великої - прозора рідина зеленувато-бурого кольору, гіркувата на смак, зі специфічним запахом.

Приклад 1. Подрібнену суху рослинну сировину трави настурції великої до необхідного розміру у кількості 100 г попередньо замочували 100 мл 40 % етиловим спиртом. Потім, набухлу сировину перенесли у перколятор, залили 250 мл 40 % етиловим спиртом до утворення "дзеркала" над поверхнею; настоювали впродовж однієї доби; сировину перкулювали 550 мл свіжими порціями 40 % етиловим спиртом до отримання необхідного об'єму. Отриману спиртову витяжку злили, осад відфільтрували, шрот віджали. Одержали 560 мл настойки з трави настурції великої. Готовий продукт - настойку упаковали у герметичну тару.

Отримана настойка з трави настурції великої - прозора рідина зеленувато-бурого кольору, гіркувата на смак, зі специфічним запахом.

Приклад 2. Для визначення впливу екстрагенту в процесі вилучення вмісту діючих речовин з трави настурції великої рослинну сировину екстрагували екстрагентами різної концентрації спирту, а саме 40 % і 70 % спиртом етиловим.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що оптимальним екстрагентом для отримання настойки з трави настурції великої, який забезпечує найбільше вилучення екстрактивних речовин, сірки та флавоноїдів є 40 % спирт етиловий. Результати досліджень занесені у таблицю 1.

Таблиця 1

Кількісний вміст флавоноїдів, сірки та екстрактивних речовин у настоянках трави настурції великої

Екстрагент	Вміст флавоноїдів, мг/кг	Вміст сірки, мг/кг	Вміст екстрактивних речовин, мг/кг
40 % спирт етиловий	513,5	0,3084	32145,0
70 % спирт етиловий	460,6	0,1902	17025,0

Приклад 3. З метою визначення протизапальної активності настойки трави настурції великої було проведено дослідження її антиексудативної дії на моделі карагенінового набряку у щурів.

Настойку трави настурції великої вводили внутрішньошлунково у профілактичному режимі протягом 5 діб в дозах 50 мг/кг. Як препарати порівняння були вибрані два препарати: стандартний нестероїдний протизапальний препарат диклофенак натрію та препарат рослинного походження з доведеною протизапальною активністю - кверцетин, їх вводили в аналогічному режимі внутрішньошлунково, диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг, кверцетин - у дозі 5 мг/кг маси тварини.

Гостре асептичне запалення в експериментальних тварин викликали шляхом введення їм 1 % розчину карагеніну згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України з доклінічного вивчення лікарських засобів. Флогогенний агент вводили щурам субплантарно в об'ємі 0,1 мл кожній тварині через 1 годину після останнього введення досліджуваних препаратів. Вимірювання величини набряку лап у щурів проводили за допомогою механічного онкометра за А.С. Захаревським в динаміці через 1, 2, 3, 6 і 24 години після введення розчину карагеніну [4].

Антиексудативну активність настойки трави настурції великої та референс-препаратів при гострому ексудативному запаленні визначали за здатністю зменшення набряку у тварин кожної групи у порівнянні з групою контрольної патології. Отримані результати у ході досліджень занесені у таблицю 2.

Таблиця 2

Антиексудативна активність настойки трави настурції великої на моделі карагенінового набряку у щурів (n=5)

Групи тварин	Доза, мг/кг	Початковий об'єм лапи (в умовних одиницях)	Об'єм лапи, у.о./антиексудативна активність, % у часовому діапазоні					
			1 години	2 годин	3 годин	6 годин	24 годин	Середня (за 24 години)
Контрольна патологія	-	46,6±1,2	57,8±1,2	67,4±1,3	78,6±1,8	75,8±1,0	67,3±1,5	-
Настойка трави настурції великої	50	46,2±1,3	<u>54,1±1,7</u> 35,0	<u>58,2±3,1*</u> 42,3	<u>64,8±2,6*</u> 41,9	<u>60,9±3,5*</u> 42,2	<u>59,2±2,0*</u> 37,2	40,1
Кверцетин	5	47,5±1,5	<u>55,9±3,6</u> 25,0	<u>63,1±2,7**</u> 25,1	<u>67,7±1,7*</u> 36,9	<u>68,8±2,7*</u> 31,3	<u>59,2±2,1*</u> 47,0	31,5
Диклофенак натрію	8	45,8±1,4	<u>50,2±2,8*</u> 60,7	<u>50,0±4,1*</u> 79,8	<u>57,9±4,3*</u> 62,2	<u>65,2±2,6*</u> 33,6	<u>63,7±2,9</u> 13,5	50,0

Примітка: Статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$): * - по відношенню до контрольної патології, ** - по відношенню до диклофенаку натрію

Як показали результати досліджень, за отриманою величиною антиексудативної активності досліджувані препарати можна розташувати у наступний ряд: диклофенак натрію (50,0 %) > настойка трави настурції великої (40,1 %) > кверцетин (31,5 %).

Таким чином, максимальну антиексудативну активність, за якою поступались диклофенаку натрію, але переважали кверцетин, виявила настойка трави настурції великої. На підставі отриманих результатів експерименту можна стверджувати про наявність у досліджуваного настою антиексудативної активності.

Приклад 4. Вивчення репаративної активності настою трави настурції великої проводили на моделі некротичних виразок шкіри у щурів [5]. Препаратами порівняння були диклофенак натрію, як еталонний нестероїдний протизапальний засіб та кверцетин - препарат рослинного походження з доведеною протизапальною активністю.

Експериментальні тварини поділили на чотири групи: I група - контрольна патологія; II - тварини, яким вводили настойку трави настурції великої в дозі 50 мг/кг маси тварини; III - тварини, які отримували диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг, та IV - тварини, яким вводили кверцетин у дозі 5 мг/кг, на тлі модельної патології.

Досліджувані препарати вводили тваринам у лікувально-профілактичному режимі внутрішньошлунково: 5 діб до відтворення модельної патології та після її моделювання протягом 25 діб один раз на добу. Вимірювання площ виразок проводили планіметричним методом у динаміці на 8, 12, 20 та 25 добу дослідження.

Отримані результати у ході досліджень занесені у таблицю 3.

Таблиця 3

Динаміка репаративної активності настою трави настурції великої на моделі некротичних виразок (n=6)

Групи тварин	12 день	20 день	25 день	Середня репаративна активність, %	% тварин із ранами, що загоїлися
Контрольна патологія	-	-	-	-	0,0
Настойка трави настурції великої	10,2	41,0	72,7	41,3	66,7*/**
Диклофенак натрію	1,4	19,0	28,0	16,1	33,3
Кверцетин	8,8	37,0	41,6	14,6	33,3

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$): * - по відношенню до контрольної патології, ** - по відношенню до диклофенаку натрію.

За середньою швидкістю загоєння виразок (52,9) та репаративною активністю (41,3 %) настойка трави настурції великої переважала у порівнянні з аналогічною дією препаратів порівняння (табл. 3). За середньою репаративною дією досліджувані препарати можна розмістити у такій послідовності: настойка трави настурції великої (41,3 %) > диклофенак натрію (16,1 %) > кверцетин (14,6 %).

Отже, настойка трави настурції великої на моделі некротичних виразок шкіри у щурів виявила найбільш виражену репаративну активність у рівних умовах патології та перевершує препарати порівняння.

Таким чином, наведене нами підтверджує, що запропонований спосіб є високотехнологічним, простим у виконанні, економічно доцільним і таким, що не потребує використання спеціального обладнання, та дозволить отримати новий лікарський засіб рослинного походження з широким комплексом біологічно активних речовин, а саме настойку трави настурції великої з достатньо вираженою протизапальною та репаративною дією.

Джерела інформації:

1. Пат. 87061, МПК А61К 36/31, А61К 127/00, А61К 31/00, А61Р 29/00. Спосіб одержання засобу з антимікробною, протизапальною та мембраностабілізуючою дією / Владимирова І.М., Кисличенко В.С., Малоштан Л.М., Тимошина І.О., Дикий І.Л. Філімонова Н.І.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний. ун-т.; заяв. 29.11.07; опубл. 10.06.09, Бюл. № 11.

2. Баєв О.О. Дослідження вмісту ефірних олій у траві настурції великої (*Tropaeolum majus* L.) / О.О. Баєв, С.М. Марчишин // Медична хімія. - № 1. - 2011. - С. 108-110.

3. Марчишин С.М. Елементарний склад листків настурції великої / С.М. Марчишин, Г.Р. Козир, О.О. Баєв // Фармацевтичний часопис - 2010 - № 1. - С. 10-12.

4. Доклінічне дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. НАМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіценна, 2001. - 528 с.
5. Експериментальне дослідження фармакологічної активності настоянки настурції на моделі некротичних виразок у щурів / С.М. Дроговоз, С.М. Марчишин, К.Г. Щокіна [та інші] // Фармацевтичний журнал. - 2011. - № 5. - С. 92-95.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною та репаративною активністю, зокрема, трави настурції великої (TROPAEOLUM MAJUS L.), що включає технологічний етап екстрагування, який **відрізняється** тим, що екстракцію проводять 40 % етиловим спиртом методом перколяції, причому рослинну сировину попереднього замочують і настоюють впродовж доби, при цьому загальне співвідношення сировина:готовий продукт становить
- 15 відповідно 1:5.

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