



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **92310** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61K 36/537 (2006.01)
A61P 31/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 02605	(72) Винахідник(и): Вовк Геннадій Валерійович (UA), Кошовий Олег Миколайович (UA), Ковальова Алла Михайлівна (UA), Рибак Вікторія Анатоліївна (UA), Комісаренко Андрій Миколайович (UA), Мига Михайло Мирославович (UA)
(22) Дата подання заявки: 14.03.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.08.2014	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.08.2014, Бюл.№ 15	(73) Власник(и): Кошовий Олег Миколайович, вул. Корчагінців, 52, кв. 34, м. Харків, 61176 (UA)

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ЛИСТЯ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ З АНТИМІКРОБНОЮ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

Спосіб одержання засобу з антимікробною та протизапальною активністю включає екстракцію рослинної сировини гарячою водою, фільтрацію, упарювання, очищення та сушіння. Як рослинну сировину використовують листя шавлії лікарської після виділення ефірної олії, екстракцію проводять послідовно розчином етанолу. Очищення проводять шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації.

UA 92310 U

Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до одержання біологічно активних засобів рослинного походження з антимікробною та протизапальною активністю з листя шавлії лікарської після одержання ефірної олії.

Відомий спосіб одержання засобу з анаболізуючою активністю [1], прийнятий як найближчий аналог. Зазначений спосіб полягає у екстракції суцвіть деревію дистильованою водою у співвідношенні 1:10 послідовно 4 рази при 80 °С, кожен раз протягом 35 хвилин. Одержані екстракти об'єднують, концентрують до половини об'єму, проводять очищення на сорбенті з суміші поліаміду і активованого вугілля у співвідношенні 1:0,2 та піддають ліофілізованій сушці протягом 20-26 годин у сублімаційному апараті зі зниженням тиску від атмосферного до $5 \cdot 10^{-1}$ - $5 \cdot 10^{-2}$ мм рт.ст. і відповідно зниженням температури від -35 до -50 °С через 1-1,5 години. Через 16 годин після початку сушіння температуру поступово підвищують до +40 °С.

Недоліками цього способу можна вважати необхідність виготовлення спеціально призначеного для нього нестандартного сорбенту, а також використання ліофілізованого сушіння при значній зміні тиску та перепаді температур у 95 °С. При цьому одержаний продукт характеризується односпрямованістю фармакологічної дії.

Задачею корисної моделі є створення способу одержання засобу рослинного походження з антимікробною та протизапальною активністю, який передбачає послідовну екстракцію листя шавлії лікарської водою та 50 % розчином етанолу після промислового одержання ефірної олії, при цьому готовий продукт має розширений спектр фармакологічної дії, а використання заявленого способу для комплексної переробки сировини забезпечить безвідходний процес одержання ефірної олії і додатково нового засобу з антимікробною та протизапальною активністю, що позитивно вплине на собівартість одержання обох засобів і дозволить вичерпно використати сировину.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі одержання засобу з антимікробною та протизапальною активністю, що включає послідовну екстракцію рослинної сировини гарячою водою, фільтрацію, упарювання, очищення, стерилізацію та сушіння, згідно з корисною моделлю, як рослинну сировину використовують листя шавлії лікарської після виділення ефірної олії, екстракцію проводять послідовно 50 % розчином етанолу при співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:3-1:9, упарюванням одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищенням шляхом відстоювання та відокремлення над осадовою рідини, яку піддають стерилізації.

У стандартних промислових умовах методом гідродистиляцій при температурі 100 °С протягом 2 годин одержують ефірну олію при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:30, при цьому паралельно водою очищеною екстрагують біологічно активні речовини (БАР) та проводять подальше настоювання протягом 12 годин. Водний витяг відділяють, фільтрують та шрот після виділення ефірної олії екстрагують 50 % розчином етанолу у співвідношенні 1:3 тричі. Водний та спиртові витяги об'єднують, фільтрують та упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищення проводять шляхом відстоювання у холодильнику та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації та сушать до сухого екстракту у вакуум-розпилювальній сушарці.

Експериментальним шляхом встановлено, що ефективним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини до екстрагенту як 1:3-1:9. При цьому, якщо співвідношення менше 1:3, не забезпечується достатня екстракція БАР, що приводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Навпаки, якщо співвідношення більше 1:9, це веде до ускладнення та подовження технологічного процесу, час упарювання та енерговитрати значно зростають. Оптимальне співвідношення 1:3-1:4 тричі тому, що забезпечується достатня екстракція БАР, час упарювання мінімальний та дозволяє отримувати екстракт на стандартному обладнанні без додаткового перезавантаження первинної сировини.

Очистку екстракту в процесі здійснення заявленого способу проводять шляхом відстоювання в холодильнику, що забезпечує осадження механічних включень та гідрофобних речовин. Відстоювання в холодильнику також запобігає прокисанню водного екстракту.

Згідно з заявленим способом, упарювання проводять до 1/20-1/22 первинного об'єму. При більшому упарюванні залишок має більшу в'язкість та зменшується його текучість, що ускладнює роботу з екстрактом та збільшує його втрати в процесі виробництва. При меншому упарюванні значно подовжується процес сушіння, наприклад у вакуум-розпилювальному апараті, та збільшуються енерговитрати.

Одержаний після упарювання екстракт стерилізують будь-яким зручним у промислових умовах способом, наприклад в автоклаві при 120 °С протягом 3-4 годин. Стерилізація

забезпечує усунення мікробної контамінації та спор мікроорганізмів, що підвищує якість продукту, безпечність при його застосуванні та збільшує строк збереження.

Стерилізований екстракт сушать, наприклад в вакуум-розпилювальному апараті, при температурі на вході 160 °C та на виході 80-90 °C, до сухого екстракту.

5 Заявлений спосіб забезпечує одержання екстракту з листя шавлії лікарської у вигляді мілкого порошку, зручного для подальшого використання у виробництві та збереження.

Заявлений спосіб здійснюють шляхом одержання з листя шавлії лікарської методом гідродистиляції при температурі 100 °C протягом 2 годин ефірної олії за стандартних умов при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:30 [2], при цьому паралельно водою очищеною здійснюється екстракція гідрофільного комплексу БАР, після зі шроту 50 % розчином етанолу екстрагують витяг, який об'єднують з водним, фільтрують, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму з подальшим відстоюванням у холодильнику. Надосадову рідину зливають та стерилізують. Екстракт являє собою прозору рідину темно-коричневого кольору, зі специфічним запахом. Далі водний розчин упарюють до одержання сухого екстракту. Вихід готового продукту 15-20 %. Одержаний сухий екстракт - гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом. Колір залежить від якості сировини та умов сушіння. Отриманий готовий екстракт містить не менше ніж: 15 % поліфенольних сполук в перерахунку на галову кислоту; 3 % гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту; 2 % флавоноїдних сполук в перерахунку на рутин.

20 Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1.

1 кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0 мм сухого листя шавлії лікарської заливали 30 л води очищеної та методом гідродистиляції протягом 2 годин при 100 °C виділяли ефірну олію. Сировину залишали для настоювання протягом 12 годин. 25 Одержали 25,3 л водного витягу. До шроту, який залишився, додавали 3,0 л 50 % розчину етанолу та настоювали при кімнатній температурі протягом доби, екстракцію повторювали тричі з новою порцією екстрагенту. Одержані спиртові (7,95 л) та водний витяги (25,30 л) об'єднували, упарювали при температурі 85 °C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690 мм рт.ст. до об'єму водного залишку 2 л. Кубовий залишок являв собою густу прозору темно-коричневу рідину, яку залишали для відстоювання на 2 доби в холодильнику. Відокремлену надосадову рідину стерилізували та сушили у розпилювальній сушарці з температурою теплоносія на вході 160 °C і на виході - 85 °C до сухого екстракту листя шавлії лікарської. Вихід готового продукту- 15,6 %.

Приклад 2.

35 Вивчення антибактеріальної активності екстракту проводили методом дифузії в агар в Інституті мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ під керівництвом канд. біол. н. Осолодченко Т.П. [3, 4]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ, для оцінки активності препаратів використовували референс-штами 40 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* 9027 ATCC, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 885/653 ATCC. Для аналізу використовували 1 % водні розчини екстракту. Екстракт з листя шавлії лікарської виявляє антибактеріальну дію по відношенню до різних таксономічних груп мікроорганізмів (табл.).

Таблиця

Дослідження антибактеріальної активності
екстракту з листя шавлії лікарської методом дифузії в агар

Мікроорганізми	Зона затримки росту мікроорганізму, мм
<i>S. aureus</i> 25923 ATCC	18±1
<i>S. aureus</i> 6538 ATCC	21±1,5
<i>E. coli</i> 25922 ATCC	15±0,5
<i>P. vulgaris</i> 4636 NCTC	ріст
<i>P. aeruginosa</i> 27853 ATCC	ріст
<i>P. aeruginosa</i> 9027 ATCC	ріст
<i>B. subtilis</i> 6633 ATCC	ріст
<i>C. albicans</i> 885/653 ATCC	17±0,5

45

Приклад 3.

Протизапальну активність сухого екстракту з листя шавлії лікарської, одержаного за заявленим способом, вивчали у дослідях на білих мишах масою 17-22 г на моделі формалінового набряку [3, 4]. Препаратом порівняння вибрали вольтарен. Дослідні тварини поділили на три групи: контрольна, група, яку лікували новим екстрактом з листя шавлії лікарської та лікована препаратом порівняння. Ступінь протизапальної активності нового засобу оцінювали за антиексудативним ефектом.

Для відтворення гострого асептичного ексудативного запалення використовували як флоген 2 % розчин формаліну, який вводили субплантарно в кількості 0,05 мл через 1 годину після перорального введення досліджуваного екстракту з листя шавлії, препарату порівняння вольтарену і у контрольній групі - води. Активність досліджуваних засобів вивчали за їх здатністю зменшувати розвиток набряку в порівнянні з контролем.

Отримані на моделі формалінового набряку у мишей результати свідчать про виражену протизапальну активність сухого екстракту з листя шавлії лікарської, отриманого шляхом комплексної переробки. Максимальний антиексудативний ефект екстракту 51,32 % спостерігався у дозі 25 мг/кг.

Приклад 4.

Нешкідливість сухого екстракту з листя шавлії лікарської, одержаного за заявленим способом, оцінювали за рівнем гострої токсичності після однократного внутрішлункового введення в дозах 5 і 10 г/кг здоровим білим нелінійним мишам. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 діб [3, 4].

Встановлено, що введення екстракту листя шавлії лікарської в максимальних дозах (10 г/кг) не викликає клінічно обумовлених симптомів інтоксикації й не приводить до летальних випадків. Таким чином, екстракт шавлії лікарської характеризується високим рівнем нешкідливості й по класифікації токсичності належить до V класу токсичності - практично нетоксичним лікарським речовинам [4].

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання засобу з антимікробною та протизапальною активністю, який відзначається рядом переваг:

1) простота виконання та можливість здійснення на стандартному обладнанні в промислових умовах України;

2) використання як екстрагента води та 50 % розчину етанолу, тобто спосіб доступний, екологічно безпечний, дешевий, такий що не вимагає роботи з отруйними, вогнебезпечними й шкідливими для здоров'я людини речовинами;

3) використання як сировини листя шавлії лікарської після виробництва ефірної олії, що дозволяє комплексно переробляти дану рослинну сировину, більш раціонально використати природні ресурси, підвищити рентабельність виробництва та зменшити його негативний вплив на навколишнє середовище;

4) наявність вираженої антимікробної та протизапальної активності екстракту з листя шавлії лікарської, одержаного за заявленим способом;

5) перспективність використання одержаного екстракту як лікарської субстанції для одержання різних лікарських форм;

6) нетоксичність екстракту, одержаного за заявленим способом, дозволяє використовувати його довгостроково при лікуванні за рекомендацією лікаря;

7) тривалий термін зберігання засобу, одержаного заявленим способом.

Джерела інформації:

1. Патент РФ № 2026076 МПК А61К 35/78. Способ получения средства, обладающего анаболической активностью / А.В. Мазулин, Н.А. Калошина, В.И. Мозуль, Г.Н. Липкан. - № 4914474/14; Заявл. 25.02.91; Опубл. 10.01.95, Бюл. № 1.

2. Державна Фармакопея України / ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид. - Доповнення 2. - Харків: ДП "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. - 620 с.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Здоров'я, 2001. - С. 292-306.

4. Експериментальне вивчення токсичної дії потенціальних лікарських засобів. Методичні рекомендації / Коваленко В.М., Стефанов О.В., Максимов Ю.М., Трахтенберг І.М. // В сб.: Доклінічні дослідження лікарських засобів. Ред. О.В.Стефанов. - К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. - С. 74-97.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання засобу з антимікробною та протизапальною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини гарячою водою, фільтрацію, упарювання, очищення та сушіння,

- який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують листя шавлії лікарської після виділення ефірної олії, екстракцію проводять послідовно 50 % розчином етанолу при співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:3 - 1:9, упарюванням одержаного рідкого екстракту до 1/20 - 1/22 попереднього об'єму, очищенням шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації.
- 5

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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