



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38870 (13) A

(51) 6 A61K35/78

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

(21) 2000116278

(22) 07.11.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Гурко Ірина Миколаївна, Кисільова Ганна Миколаївна, Манасьян Анаїт Саркісівна, Лапідус Володимир Йосипович, Лапідус Олександр Володимирович, Федоров Тимур Анцельович

(73) Гурко Ірина Миколаївна, Кисільова Ганна Миколаївна, Манасьян Анаїт Саркісівна, Лапідус Володимир Йосипович, Лапідус Олександр Володимирович, Федоров Тимур Анцельович

(57) Спосіб отримання активної речовини рослинного походження, що включає розміщення шару сировини в замкненому об'ємі, висушування у вакуумі при нагріванні з продуванням теплоносія через шар сировини і наступне вилучення летючих компонентів, який **відрізняється** тим, що висушування проводять у вакуумі 250...380 мм рт.ст., нагрівання сировини проводять контактним методом до 35...41°C, як теплоносієм використовують пари, що утворюються в процесі висушування, а летючі компоненти відбирають конденсацією їх на стінках замкненого об'єму, температуру яких підтримують у межах точки роси, при цьому конденсат представляє собою біологічно активну воду.

Винахід відноситься до медицини, а саме - до хіміко-фармацевтичної промисловості і стосується способу отримання біологічно активної речовини рослинного походження.

Відомий спосіб отримання біологічно активних речовин із рослинної або тваринної сировини, який містить у собі подрібнення сировини, що обробляється, в стані природної вологості, нагрів з отриманням суміші парів екстрагенту і біологічно активних речовин, конденсацію отриманої суміші і виділення із неї щонайменше однієї біологічно активної речовини [1].

Даний спосіб дозволяє порівняно швидко отримувати біологічно активну речовину доброї якості, наприклад ефірну олію. Як екстрагент в даному способі використовують воду, якою додатково змочують сировину, що обробляється, перед нагрівом. Однак використання зовнішнього екстрагенту, а саме - додаткової води, робить неможливим отримання біологічно активної речовини у пропорціях, притаманних живій рослинній або тваринній сировині. Крім того, даний спосіб дозволяє отримувати тільки одну біологічно активну речовину, наприклад ефірну олію, вміст якої в рослинній сировині, як правило, не перевищує кількох процентів (1-8%), хоча відомо, що в сировині біологічно активних речовин міститься кілька десятків, і об'єм їхніх розчинів у внутрішній рідині сировини, що обробляється, досягає 50-80%.

Відомий також спосіб отримання біологічно активних речовин із рослинної або тваринної сировини, який включає подрібнення сировини, що об-

робляється, в стані природної вологості, нагрів його НВЧ (надвисокочастотним) полем з отриманням суміші парів екстрагенту і біологічно активних речовин, конденсацію отриманої суміші і виділення із неї щонайменше однієї біологічно активної речовини, як екстрагент використовують гази і рідину, які містяться у сировині, що обробляється, при цьому після виділення щонайменше однієї біологічно активної речовини сконденсований екстрагент щонайменше один раз з боку, протилежного виходу суміші парів, подають в сировину, що обробляється, для повторної взаємодії з ним [2].

По даному способу після щонайменше однієї повторної взаємодії екстрагента з сировиною, що обробляється, в процесі нагріву НВЧ полем в сировину, що обробляється, подається додатковий екстрагент. Це дозволить за рахунок його взаємодії з розвинутою активною поверхнею капілярів і клітин, яка утворюється після їх руйнування на перших стадіях технологічного процесу, отримати додаткову кількість біологічно активних речовин, які не провзаємодіють з екстрагентом.

Основними недоліками цього способу є потреба у спеціальному обладнанні, а саме НВЧ установки спеціальних розмірів і габаритів. НВЧ поле не є природним для речовин рослинного походження. НВЧ поле завдає руйнування стінок капілярів і клітин речовини, що обробляється, за рахунок гідродинамічних і кавітаційних дій, а також їх індукційний розігрів. Це, в свою чергу, впливає на внутрішню структуру сировини, що обробляється, зменшуючи її біологічну активність.

(19) UA (11) 38870 (13) A

Застосування додаткового екстрагенту також забруднює первинний продукт обробки своїми компонентами, що негативно впливає на біологічну активність речовини, що видобувається.

Найбільш близьким до рішення за винаходом є технічне рішення, яке може використовуватися і для отримання біологічно активних речовин із рослин [3]. Даний спосіб є найбільш близьким до способу за винаходом, оскільки в ньому використовується вакуумне сушіння без заморожування сировини. Він містить у собі розміщення шару сировини (речовини, яка висушується) у замкнений об'єм, в якому підтримують розрідження від 600 до 1 мм рт. ст. Цей шар продувають теплоносієм (осушувальним газом), який має точку роси – 75...0°C, переважно –73...-50°C. Випаровані із речовини, що висушується, пари води і летючі складові змішують з осушувальним газом. Після цього цю суміш пропускання через адсорбер, де відбирають летючі складники у формі порошку.

Аналіз найбільш близького до способу, що пропонується, показує, що введення очистки в адсорбері суміші парів води, летючих складових і осушувального газу, які випаровані із сировини, що висушується, від указаних летючих складових призводить до забруднення лікарського препарату, що виробляється з них, компонентами осушувального газу, що знижує біологічну активність речовин, які здобуваються.

Крім того, при реалізації способу, найбільш близького до того, що пропонується, в процесі сушіння біологічно активні речовини отримуються у водному розчині, тобто в тих умовах, в яких вони існують в рослинах. Після проведення очистки в адсорбері водянну пару відганяють. Надалі отримані біологічно активні речовини використовуються у формі порошку.

Є достовірні дані про визначну, регуляторну роль води в біологічних системах, до яких відносяться і лікарські рослини, із яких отримуються біологічно активні речовини. Встановлено, що вода діє на стан і функціональні характеристики різних біологічних структур, починаючи від макромолекул білків, біомембран і закінчуючи клітинним і більш високими рівнями організації подібних систем. Властивості і структура води, яка є основним компонентом як рослини, так і тіла людини, визначають фізико-хімічні механізми функціонування і стійкості біологічних систем, включаючи і можливості їхньої зміни під впливом вітамінів, ферментів, мікроелементів та інших біологічно активних речовин.

Регуляторна роль води і, отже, її вирішальне значення в становленні рівноваги сил в межах даної біологічної системи значно змінюється і навіть втрачається під впливом дії тепла, холоду, тиску, забруднення, зміни кислотно-лужного балансу і турбулізації, оскільки при цьому змінюється структура води і її стан у дисперсних системах.

Отже, при здобуванні біологічно активних речовин із сировини рослинного походження з використанням способу, найбільш близького до того, що заявляється, окрім забруднення лікарського препарату компонентами осушувального газу, додатково знижується біологічна активність речовин, що здобуваються, при вилученні води, в якій вони розчинені, знаходячись у рослинах.

Завданням винаходу є забезпечення отримання із сировини рослинного походження біологічно активних речовин зі зберіганням їхніх природних властивостей і таких, які мають визначену біологічну активність.

Суть даного винаходу полягає в тому, що при реалізації способу, що пропонується, здобування біологічно активних речовин із рослинної сировини робиться в умовах, які є максимально наближеними до умов існування як рослини, так і людини при їх нормальній життєвій діяльності.

Для реалізації пропонованого способу шар рослинної сировини розташовують в замкнутому об'ємі, в якому рівень розрідження підтримують 380...250 мм рт. ст., а шар сировини нагрівають до температури 35...41°C і продувають цей шар сумішшю випаруваних із нього парів води і летючих складових, направляють цю суміш на стінки, які обмежують замкнений об'єм, і температуру цих стінок підтримують нижче точки роси, конденсують на цих стінках вказану суміш і збирають конденсат, який становить виділені з цієї рослинної сировини летючі речовини, розчинені у воді, яка виділена із нього ж. Збір конденсату здійснюють в ємність, яка герметично з'єднана з замкненим об'ємом.

Сушка рослинної сировини по способу за винаходом відбувається, як і у відомому способі, також у замкнутому об'ємі, де підтримується вакуум. Але розрідження в замкнутому об'ємі при використанні пропонованого способу обирається рівним від 380 до 250 мм рт.ст., тобто виключає можливість застосування більш глибокого вакууму, як це пропонується відомим способом.

Значення температури сушки в запропонованому способі обрані рівними 35...41°C, в той час як у відомому способі цей показник не обмежується.

У відомому способі продувка шару сировини здійснюється теплоносієм, і за рахунок цього відбувається його сушка. А виділення летючих компонентів відбувається у адсорбері.

У способі, що пропонується, сушку здійснюють за рахунок підігріву теплом, яке підводиться до шару сировини, а продувають цей шар сумішшю парів води і летючих складових, які випарувались із нього. При цьому летючі компоненти виділяються за рахунок конденсації парів води, а не шляхом очистки в адсорбері, як це передбачається відомим способом.

Співставлення істотних чинників відомого і запропонованого способів свідчить про переваги останнього у частині збереження біологічної активності речовини, що отримується.

Це пояснюється тим, що він забезпечує процес видобування при істотно менших тиску і температурі, а також без забруднення продукту, що видобувається.

У результаті застосування запропонованого способу одержують біологічно активну воду, тобто воду, яка була вилучена безпосередньо із рослин, в якій розчинені одночасно вилучені із цих же рослин біологічно активні речовини. Одночасно одержують і висушені рослини.

На рисунку (фіг.) наведена принципова схема установки, на якій можливе здійснення запропонованого способу.

Дані наводяться по одному з типорозмірів установки, яка має об'єм замкнутого простору  $1,2 \text{ м}^3$  та загальну площу стелажу  $10 \text{ м}^2$ .

Приклад. Запропонований спосіб здійснюється наступним чином.

Шар рослинної сировини рівномірно розміщують на стелажі 6 у замкнутому об'ємі корпусу 1. Включають насос 3 для подачі охолоджувальної рідини в охолоджувальний кожух 2 і вакуумний насос 4. Рівень розрідження у корпусі 1 у межах 380...250 мм рт.ст. встановлюють за допомогою регулювального вакуумного клапана 5. Нагрівають шар рослинної сировини, що розташована на стелажі 6 за допомогою підігрівача 9, а рівень нагріву у межах температур 35...41°C встановлюють за допомогою регулятора інтенсивності підігріву 10. Включають вентилятор 11, який розташований всередині корпусу 1 і через колектор 12 здійснюють продувку шару рослинної сировини, що розташована на стелажі 6, парами, які виділяються із рослин, що висушуються. За допомогою регулювального клапана 8 подачі рідини в охолоджувальний кожух 2 встановлюють температуру стінки корпусу 1 в межах точки роси. Суміш парів води та летючих компонентів, які виділені з рослинної сировини, направляють потоком цієї ж суміші вентилятором 11 через колектор 12 на стінку корпусу 1, де їх конденсують. Конденсат, що утворюється, через трубу 13 та вентиль 15 направляють в ємність для збору конденсату.

Тривалість процесу сушки запропонованим способом обирають у залежності від вологості та кількості рослинної сировини і видобувають біологічно активну воду згідно з даними табл. 1.

У табл. 2 наведені дані хімічного аналізу проб, які відібрані із вилучених рослин запропонованим способом, що свідчить про високий вміст мікроелементів.

У табл. 3 наведені дані, які свідчать про антимікробну активність пропонованої речовини.

Визначення чутливості мікроорганізмів до речовини здійснено за допомогою методу серійних розведень у рідких живильних середовищах.

Відповідно до рекомендацій ВОЗ, для оцінки активності препаратів були використані еталонні штами *Staphylococcus aureus* (№ 201189 по каталогу ГІСК), *Streptococcus pyogenes* (№ 130046), *Pseudomonas aeruginosa* (№ 190127), *E.coli* C-600, а також штами сальмонел, гриби роду кандіда і сахароміцети з авторської колекції.

Кількість посівної культури знаходилась на рівні 104-106 колонієобразних одиниць на 1 мл. При по-

становці дослідів готували одномільярдне суспензії кожного штаму за допомогою стандарту мутності.

Для вивчення протипухлинної активності були використані штами кліток HeLa. Клітки вирощували на середовищі № 199 з додаванням 10% телячої сироватки. "Скрінінг-тест" оцінювали по ступені деструктивних змін морфології клітинної системи при мікроскопіюванні. Характеристика дії біологічних речовин на перевиваємі ракові клітини HeLa приведена у табл. 4.

Як видно із наведених у табл. 3 матеріалів, екстракти часнику і цибулі, які отримані при різних режимах консервування, мають однакову антибактеріальну і противогрибкову активність. Витяжки із часнику проявляли бактерицидну активність при розведеннях 1:128, а бактеріостатичну - при 1:256. При цьому кількість стафілококів, стрептококів в результаті бактеріостатичної дії фітонцидів знижувалась в 3-5 разів порівняно з контролем. Окрім широкого спектру антибактеріальної дії відносно мікробів, які відрізняються високою стійкістю до багатьох антибіотиків, витяжки часнику призводили до загибелі і тест-культур грибів, що відкриває перспективу для використання цих біологічних речовин як антифунгіцидних лікарських препаратів.

Водні витяжки цибулі виявились менш активними. Проте спектр антимікробної дії виявився таким же широким, як і у фунгіцидів часнику.

Важливо відзначити, що зберігання водних витяжок протягом 9 місяців при низьких (4...6°C) і значних плюсових температурах (37°C) суттєво не впливало на їхні інгібіруючі властивості. Антимікробна активність таких зразків знижувалась у порівнянні зі свіжоприготовленими лише на одне розведення.

Як видно із табл. 4, водні витяжки окремих рослин мали виражену здібність викликати повну деградацію ракових клітин.

Це дає підставу вважати, що такі біологічні речовини можуть бути перспективним первинним матеріалом для пошуку сполучень з протипухлинними властивостями.

Джерела інформації

1. Гавриленко И.В. Маслоэкстракционное производство. - М.: Пищепромиздат, 1960. - С. 230-233.

2. Патент РФ № 2029559, МКИ А61К35/78, С11В9/02, В01Д11/02. 1995, Бюл. № 6.

3. Патент США № 4251923, кл. 34-15, 1981 (прототип).

Таблиця 1

Назва рослини	Вологість рослинної сировини, %	Маса рослинної сировини у початковому стані, кг	Тривалість процесу, год	Кількість вилученої біологічно активної води, л
Часник	70,0	40	17,5	28,0
Цибуля	86,0	36	15,5	31,0
Яблука	86,0	50	20,5	43,0
Морква	88,5	36	16,0	32,0
Клюква	89,5	35	16,0	32,0

Таблиця 2

ГДК мг/дм <sup>3</sup>	Клюква	Морква	яблука	Цибуля	Часник	Назва рослини	Кількість речовини, мг/дм <sup>3</sup>										Водневий показник рН	Сумарна В- активність, Кі/дм <sup>3</sup>		
							S	Al	Ca	Cr	Ni	Co	NH <sub>4</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>	SO <sub>4</sub>			Fe	
							сірка	алюміній	кальцій	хром	нікель	кобальт	аміак	нітриди	нітрати	сульфати			залізо	хлориди
По O <sub>4</sub> ре- зультат х 3	20	21	20	22	22	сірка														
0,5	0,23	0,30	0,20	0,22	0,16	алюміній														
	15	14	43	15	46	кальцій														
0,1	Немає	Немає	0,20	0,07	0,04	хром														
0,10	0,18	0,10	0,10	0,08	0,13	нікель														
0,1 мг/9м <sup>3</sup>	0,11	Немає	0,10	Немає	Немає	кобальт														
12	1,06	1,6	6,5	2,6	1,6	аміак														
0,1	0,033	0,02	0,07	0,01	0,14	нітриди														
45	0,13	0,18	Немає	0,18	0,57	нітрати														
500	4	5	5	3	5	сульфати														
0,3...1,0	0,22	0,46	0,06	0,12	0,10	залізо														
350	Немає	Немає	Немає	Немає	Немає	хлориди														
6,0...9,0	7,4	7,1	7,2	6,9	7,2	Водневий показник рН														
	4,2·10 <sup>-11</sup>	5,8·10 <sup>-11</sup>	5,8·10 <sup>-11</sup>	4,2·10 <sup>-11</sup>	5,8·10 <sup>-11</sup>	Сумарна В- активність, Кі/дм <sup>3</sup>														

Антимікробна активність біологічних речовин, які одержані при різних режимах консервування рослинної сировини

Умови отримання біологічного препарату	Вид рослинної сировини	Тест культури	Антимікробна активність фітонцидів у розведеннях				
			1:1-1:2	1:4-1:8	1:16-1:32	1:64-1:128	1:256 і більше
Температура - 35°C, вакуум – 250 мм рт.ст.	Часник	St. Aureus	+	+	+	+	x
		Str. Pyogenes	+	+	+	+	x
		E. coli	+	+	+	+	-
		P. aeruginosal	+	+	+	+	-
		S. enteritidis	+	+	+	-	-
		C. albicans	+	+	+	-	-
		C. orizezi	+	+	+	-	-
		Saочaromyces coresbergensis	+	+	+	-	-
	Цибуля	St. Aureus	+	+	-	-	-
		Str. Pyogenes	+	+	-	-	-
		E. coli	+	+	+	-	-
		P. aeruginosal	+	+	-	-	-
		S. enteritidis	+	-	-	-	-
		C. albicans	+	+	-	-	-
		C. orizezi	+	+	-	-	-
		Saочaromyces coresbergensis	+	+	-	-	-
Температура - 35°C, вакуум – 380 мм рт.ст.	Часник	St. Aureus	+	+	+	+	x
		Str. Pyogenes	+	+	+	+	x
		E. coli	+	+	+	+	-
		P. aeruginosal	+	+	+	+	-
		S. enteritidis	+	+	+	-	-
		C. albicans	+	+	+	-	-
		C. orizezi	+	+	+	-	-
		Saочaromyces coresbergensis	+	+	+	-	-
	Цибуля	St. Aureus	+	+	-	-	-
		Str. Pyogenes	+	+	-	-	-
		E. coli	+	+	+	-	-
		P. aeruginosal	+	+	-	-	-
		S. enteritidis	+	-	-	-	-
		C. albicans	+	+	-	-	-
		C. orizezi	+	+	-	-	-
		Saочaromyces coresbergensis	+	+	-	-	-

Продовження табл. 3

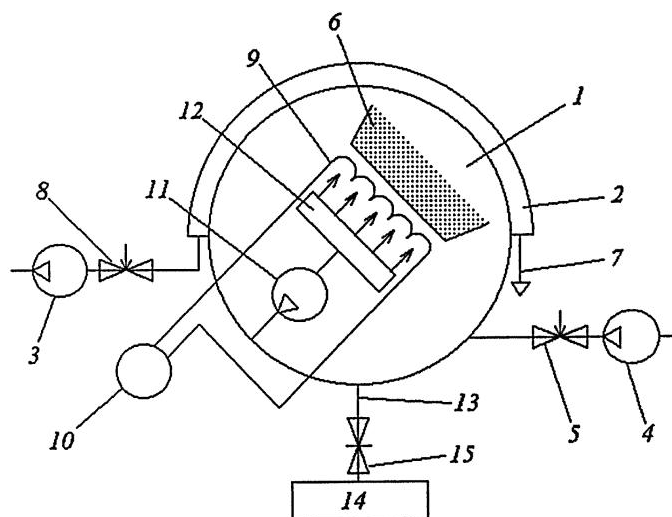
Умови отримання біологічного препарату	Вид рослинної сировини	Тест культури	Антимікробна активність фітонцидів у розведеннях				
			1:1-1:2	1:4-1:8	1:16-1:32	1:64-1:128	1:256 і більше
Температура - 41°C, вакуум – 250 мм рт.ст.	Часник	St. Aureus	+	+	+	+	+
		Str. Pyogenes	+	+	+	+	+
		E. coli	+	+	+	+	-
		P. aeruginosal	+	+	+	+	-
		S. enteritidis	+	+	+	-	-
		C. albicans	+	+	+	-	-
		C. oriezei	+	+	+	-	-
		Saочaromyces coresbergensis					
	Цибуля	St. Aureus	+	+	-	-	-
		Str. Pyogenes	+	+	-	-	-
		E. coli	+	+	+	-	-
		P. aeruginosal	+	+	-	-	-
		S. enteritidis	+	-	-	-	-
		C. albicans	+	+	-	-	-
		C. oriezei	+	+	-	-	-
		Saочaromyces coresbergensis	+	+	-	-	-
Температура - 41°C, вакуум – 380 мм рт.ст.	Часник	St. Aureus	+	+	+	+	x
		Str. Pyogenes	+	+	+	+	x
		E. coli	+	+	+	+	-
		P. aeruginosal	+	+	+	+	-
		S. enteritidis	+	+	+	-	-
		C. albicans	+	+	+	-	-
		C. oriezei	+	+	+	-	-
		Saочaromyces coresbergensis					
	Цибуля	St. Aureus	+	+	-	-	-
		Str. Pyogenes	+	+	-	-	-
		E. coli	+	+	+	-	-
		P. aeruginosal	+	+	-	-	-
		S. enteritidis	+	-	-	-	-
		C. albicans	+	+	+	-	-
		C. oriezei	+	+	+	-	-
		Saочaromyces coresbergensis	+	+	+	-	-

Примітка: + - наявність бактерицидної активності, - - відсутність бактерицидної активності, x – наявність бактеріостатичної активності.

Таблиця 4

Вид рос- линної сировини	Стан клітин в дослідях											
	№ 1				№ 2				№ 3			
	1-й д.	2-й д.	3-й д.	4-й д.	1-й д.	2-й д.	3-й д.	4-й д.	1-й д.	2-й д.	3-й д.	4-й д.
Буряк	+	++	++	++	+	++	+++	+++	+	++	+++	+++
Капуста	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+
Часник	++	+++	+++	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
Золотий корінь	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Гарбуз	++	+++	+++	+++	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Тутовник	++	+++	+++	+++	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Контроль культури	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примітка: 0 – пласт збережений, + - незначна деградація клітин, ++ - дегенеруючих клітин 50%, +++ - повна дегенерація клітин.



Фіг.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60х84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22