



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105231** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)
A61K 36/74 (2006.01)
A61K 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2012 02799	(72) Винахідник(и): Проскочило Андрій Вікторович (UA), Дем'яненко Віктор Григорович (UA), Дем'яненко Дмитро Вікторович (UA)
(22) Дата подання заявки: 12.03.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.04.2014	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.09.2013, Бюл.№ 18	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.04.2014, Бюл.№ 8	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 64792 U, 25.11.2011. UA 85104 C2, 14.02.2007. UA 59166 U, 20.09.2010. Дем'яненко Д.В. Дослідження динаміки процесу екстракції ліпофільного комплексу зі суцвіть <i>Tilia cordata</i> // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. - 2011.- випуск XXIV. - №2. - С.18-22. Рубчевская Л.П., Ушанова В.М., Журавлёва Л.Н. Биологически активные вещества углекислотных и пропан-бутановых экстрактов древесной зелени // Российский химический журнал. - 2004. - Т. XLVIII. - №3. - С. 80-84. UA 65519 U, 12.12.2011. UA 87071 C2, 10.06.2009. UA 93003 C2, 27.12.2010. CN 102038782 A, 04.05.2011, abstract. CN 101293038 A, 29.10.2008, abstract.

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІПОФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ ІЗ ТРАВИ ПІДМАРЕННИКА СПРАВЖНЬОГО**(57) Реферат:**

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до способів одержання екстрактів з рослинної сировини, а саме трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.). Спосіб одержання ліпофільного екстракту з трави підмаренника справжнього, завдяки екстракції сировини зрідженим газом під тиском при заданих технологічних параметрах і здійсненні екстракції зі змінною швидкістю подачі екстрагента, дозволяє зберегти діючі речовини у незмінному вигляді та досягти їх доцільного для промислового виробництва виходу, а також підвищити екологічну безпечність заявленого способу.

UA 105231 C2

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до способів одержання екстрактів з рослинної сировини, а саме з трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.).

Відомий спосіб [1] отримання екстракту із надземної частини підмаренника справжнього, зібраного до початку цвітіння за допомогою етилацетату. Вказаний спосіб передбачає сушіння свіжих надземних частин підмареннику справжнього у затінку, подальше її подрібнення, екстракцію етилацетатом при температурі, яка не перевищує температуру його кипіння (до 77,1 °C), з отриманням етилацетатної фракції, із якої в подальшому виділяють асперулозид шляхом викристалізовування за допомогою дистильованої води.

Недоліками даного способу можна вважати високу пожежо- та вибухонебезпечність розчинника, та порівняно високу температуру кипіння етилацетату, що призводить до руйнування певних груп біологічно-активних речовин (БАР). Крім того у способі не описано параметри технології отримання екстракту, як то ступінь подрібнення і вологість сировини, співвідношення сировина: екстрагент, тривалість екстракції.

Відомий спосіб [2] одержання екстракту із трави підмаренника справжнього зібраної у травні шляхом екстрагування її ацетоном і подальшим упарюванням одержаного витягу під вакуумом. Ацетоновий екстракт піддається подальшій обробці для виділення кристалічного асперудозиду.

До недоліків вказаного способу можна віднести суттєві втрати розчинників при проведенні екстракції у незамкненому циклі, вірогідність забруднення навколишнього середовища при їх попаданні з промисловими стоками у воду та з вентиляційними викидами - в атмосферу. До того ж ацетон є токсичним, пожежо- та вибухонебезпечним, та є прекурсором, що потребує спеціального обліку. Крім того у способі [2] не повідомляється про умови проведення процесу екстракції, як то температура, тривалість екстракції, ступінь подрібнення сировини та її співвідношення до екстрагенту.

Відомий спосіб [3] одержання екстракту із трави підмаренника справжнього. Спосіб передбачає екстрагування висушеної подрібненої сировини зібраної у фазі цвітіння гексаном. Отриманий екстракт упарюють під вакуумом, для одержання фракції n-алканів. В подальшому гексанову фракцію піддавали обробці для виділення глікозидів іридоїдів.

До недоліків вказаного способу [3] можна віднести використання вогнебезпечного органічного розчинника - n-гексану, а також обмежену селективність стосовно певних груп БАР. Також варто відмітити відсутність даних про тривалість і умови екстракції та відгону залишкового розчинника. Не вказано ступінь подрібнення сировини, співвідношення сировина: екстрагент.

Відомий спосіб [4] одержання екстракту із трави підмаренника справжнього, який передбачає подрібнення свіжозібраної трави підмаренника справжнього до дрібних частинок, подальшу обробку сировини 70 % водним розчином ацетону і подальшим концентруванням і фільтрацією отриманого екстракту. Одержаний екстракт надалі використовували для виділення індивідуальних сполук.

До недоліків способу [4] можна віднести суттєві втрати розчинників при проведенні екстракції у незамкненому циклі, вірогідність забруднення навколишнього середовища при їх попаданні з промисловими стоками у воду та з вентиляційними викидами - в атмосферу. До того ж ацетон є токсичним, пожежо- та вибухонебезпечним, та є прекурсором, що потребує спеціального обліку. У вказаному способі не описано основні технологічні параметри одержання екстракту, як то - ступінь подрібнення, співвідношення сировина: екстрагент, тривалість і температуру процесу екстракції та відгону розчинника при концентруванні витягу.

Відомий спосіб [5] одержання екстракту із трави підмаренника справжнього. Висушену і подрібнену траву підмаренника справжнього екстрагують петролейним ефіром шляхом мацерації у співвідношенні сировина: екстрагент (1:10) протягом 48 год., а потім 70 % водним розчином метанолу при тих же умовах. Отримані екстракти в подальшому піддавались обробці, для проведення антимікробних і антимутагенних досліджень.

До недоліків вказаного способу [5] можна віднести значну тривалість процесу, особливо для водно-метанольної фракції. Також недоліком виступає використання пожежонебезпечних та отруйних розчинників - петролейного ефіру та метанолу. Крім того у вказаному способі відсутні дані про умови відгону розчинників. Також недоліком виступає обмежена селективність обраних розчинників по відношенню певних груп БАР.

Відомий спосіб одержання екстракту із трави підмаренника справжнього [6]. Для реалізації даного способу зібрану траву підмаренника справжнього подрібнюють і екстрагують окремо водою та метанолом у співвідношенні сировина: екстрагент (1:20). Водний екстракт висушують шляхом ліофілізації, а метанольний - спочатку упарюють, а потім ліофілізують. В подальшому висушені екстракти досліджували на антиоксидантну активність.

До недоліків вказаного способу можна віднести використання високо полярного розчинника - води, яка екстрагує значну кількість природних БАР полярної природи (полісахариди, органічні кислоти та ін.), що зумовлюють швидке псування екстракту. Використання процесу ліофілізації є досить енерго- і матеріально затратним, що у свою чергу збільшує собівартість отримання екстракту, хоча й дозволяє зберегти БАР у нативному вигляді. Крім того метанол потребує спеціальних умов поводження з ним, оскільки він є пожежонебезпечним. Крім того, у способі [6] не повідомляється про умови проведення екстракції, як то температура і тривалість процесу, ступінь подрібнення сировини.

Відомий спосіб [7] одержання екстракту з надземної частини підмаренника справжнього шляхом екстрагування метанолом. Даний спосіб здійснюють наступним чином. Зібрану у фазі цвітіння траву підмаренника справжнього сушать у затінку. Висушену сировину екстрагують тричі метанолом при співвідношенні сировина: екстрагент (1:3,33) при температурі 40 °С. Після фільтрації об'єднані фракції упарюють під вакуумом до сухого залишку.

До недоліків способу [7] можна віднести використання небезпечного розчинника метанолу - клас небезпечності 3 за ГОСТ 12.1.007-76, який характеризується високою пожежонебезпечністю, що потребує спеціальних умов поводження з ним. У способі [7] не вказано ступінь подрібнення сировини, а також не повідомляється про тривалість екстракції та умови відгону залишкового розчинника.

Відомий спосіб [8] отримання екстракту з трави підмаренника справжнього. Вказаний спосіб реалізується наступним чином. Повітряно-суху траву підмаренника справжнього екстрагували тричі 95 % етанолом при співвідношенні сировина: екстрагент (1:10) протягом 2 годин на кожен етап. Об'єднані витяги упарювали під вакуумом до отримання залишку. Одержаний екстракт надалі використовували для виділення індивідуальних сполук.

До недоліків способу можна віднести використання порівняно дорогого та легкозаймистого розчинника, а також тривалість і багатостадійність процесу. Також, у способі [8] не повідомляється про ступінь подрібнення сировини і умови відгону розчинника. Окрім того, 95 % етанол володіє досить обмеженою селективністю до певних груп БАР.

Відомий спосіб отримання екстракту із надземної частини підмаренника справжнього [9], який передбачає обробку попередньо висушеної у затінку, а потім подрібненої на електричному блендері трави підмаренника справжнього органічними розчинниками, а саме хлороформом та метанолом. Екстракцію проводять у циркуляційному екстракторі типу Soxhlet протягом 24 годин, при температурі, яка не перевищує температуру кипіння розчинників, тобто 64,7 °С для метанолу, та 61,2 °С для хлороформу. Відгін залишкових розчинників здійснюють на роторному випарювачі. Отримані екстракти фільтрують через паперові фільтри Whatman (№ 1) і висушують при кімнатній температурі.

Недоліками вказаного способу можна вважати використання небезпечних розчинників: хлороформу - клас небезпечності 2, та метанолу клас небезпечності 3 за ГОСТ 12.1.007-76. Також недоліками є значна тривалість процесу екстракції, порівняно висока температура кипіння хлороформу та метанолу, що призводить до руйнування певних груп БАР. Крім того метанол характеризується високою пожежонебезпечністю, що потребує спеціальних умов поводження з ним. У способі [9] не вказано час збору сировини та ступінь її подрібнення, також не повідомляється про співвідношення сировина: екстрагент і умови відгону залишкового розчинника.

Відомий спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії [10] шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини органічним розчинником з наступним упарюванням до видалення екстрагента і отриманням сухого залишку, який відрізняється тим, що як сировину використовують траву підмаренника справжнього, екстракцію здійснюють хлороформом при загальному співвідношенні сировина: екстрагент - 1:10-1:12 до знебарвлення розчинника, при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С, з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі протягом 28-32 годин.

До недоліків вказаного способу можна віднести використання отруйного органічного розчинника - хлороформу, а також тривалість і багатостадійність процесу. Окрім того відгін залишкового розчинника із екстракту у вакуумі потребує додаткових енергозатрат, та у свою чергу приводить до його втрати, і є вірогідність забруднення навколишнього середовища при його попаданні з промисловими стоками у воду та з вентиляційними викидами - в атмосферу. До того ж тривалий вплив розчинника з температурою до 55-60 °С на сировину підмаренника справжнього призводить до втрати термолабільних речовин, як то наприклад глікозиди іридоїдів, ефірні олії, та ін.

Найближчим за сукупністю ознак до заявленого способу є спосіб одержання ліпофільного комплексу із плодів шипшини [11], який полягає у екстракції сухої сировини, подрібненої до

розмірів 0,355-1,4 мм з вологістю 0-10 %, переважно 5-7 %, зрідженим дифторхлорметаном, причому процес екстракції триває принаймні 30 хвилин з постійним зливом готового екстракту при здійсненні екстракції таким чином, щоб у перші принаймні 10 хвилин питома витрата екстрагенту становила 200-250 мл/хв на 1 кг сировини, а протягом решти часу - 50-70 мл/хв на 1 кг сировини.

Проте відомий спосіб забезпечує вичерпну екстракцію ліпофільних речовин з плодів шипшини і не є оптимальним для інших видів рослинної сировини.

В основу винаходу поставлена задача створення нового способу одержання ліпофільного екстракту з трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), який завдяки екстракції сировини зрідженим газом під тиском при заданих технологічних параметрах і здійсненні екстракції зі змінною швидкістю подачі екстрагента дозволяє зберегти діючі речовини у незмінному вигляді та досягти їх доцільного для промислового виробництва виходу, а також підвищити екологічну безпечність заявленого способу.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання ліпофільного екстракту шляхом екстракції рослинної сировини, подрібненої до розміру часток 0,5-1,5 мм з вологістю 0-10 %, під тиском зрідженим газом, переважно дифторхлорметаном, з постійним зливом екстракту та рециркуляцією екстрагента при здійсненні екстракції зі змінною швидкістю його подачі, на відміну від прототипу передбачено, що екстракції піддають траву підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) при співвідношенні сировина: екстрагент 1:2-1:20, переважно 1:4-1:8, при температурі 10-50 °С, переважно 30-40 °С, протягом принаймні 2 годин, причому протягом перших 40 хв. питома витрата екстрагенту становить 100 мл/хв на 1 кг сировини, а решту часу питома витрата екстрагенту скорочується вдвічі.

Згідно з винаходом екстрагент може бути вибраний з C_{1-4} гідрогенфторвуглеводнів. Винаходом також передбачено, що в якості екстрагента можуть бути використані діоксид вуглецю, або суміш аліфатичних або аліциклічних вуглеводневих сполук, вибраних з ряду C_{2-6} , переважно C_{2-4} , і представлених переважно вуглеводнями з ряду алканів або циклоалканів, зокрема таких, як н-пропан або і-пропан або н-бутан або і-бутан, причому екстракцію здійснюють при температурі 10-30 °С.

Вибір зріджених газів з ряду гідрогенфторпохідних вуглеводнів, переважно дифторхлорметану (фреону-22), як екстрагентів, обумовлений виявленими в експерименті їх високими екстрагуючими властивостями у відношенні до основних груп ліпофільних БАР трави підмаренника справжнього та екологічною безпекою.

Також згідно із заявленим способом екстракцію трави підмаренника справжнього можна проводити зрідженими діоксидом вуглецю або сумішами вуглеводневих сполук вибраних в ряду C_{2-6} , переважно C_{2-4} , які можуть бути аліфатичними або аліциклічними, переважно вуглеводнями з ряду алканів і циклоалканів, зокрема таких як н-пропан, і-пропан, н-бутан та і-бутан, враховуючи їх достатні екстрагуючі властивості відносно речовин, що входять до складу трави підмаренника справжнього.

Згідно із заявленим способом температура екстракції складає 10-50 °С. При температурі нижче 10 °С значно уповільнюється процес дифузії БАР та знижується їх вихід, при температурі більше 50 °С можливі хімічні трансформації термолабільних сполук, також значно підвищується робочий тиск в екстракційній системі, що викликає необхідність застосування більш міцного та дорогого обладнання.

Найбільш оптимальною для гідрогенфторпохідних вуглеводнів є температура 30-40 °С, а для діоксиду вуглецю або пропан-бутанових сумішей - 10-30 °С.

Співвідношення сировина: екстрагент згідно із заявленим способом становить 1:2-1:20. При меншому співвідношенні не досягається необхідний градієнт концентрацій БАР, що значно гальмує їх дифузію; більш високе співвідношення призводить до перевитрат екстрагенту, подовження тривалості екстракції і, таким чином, є економічно недоцільним. Кращим є співвідношення сировина: екстрагент 1:4-1:8.

Часові інтервали екстракції визначені експериментальним шляхом на основі вивчення динаміки процесу. Згідно із заявленим способом екстракція трави підмаренника справжнього триває не менше 2 годин.

Подрібнення сухої сировини до розмірів 0,5-1,5 мм є достатнім для даного способу. Більш тонке подрібнення не є технологічним, бо спричиняє забивання фільтрів обладнання, прискорює зношення подрібнюючих механізмів та перегрівання сировини в процесі подрібнення і, як наслідок, втрати частини діючих речовин. Збільшення розмірів часток сировини понад 1,5 мм уповільнює процес екстракції при збільшенні витрат екстрагенту і зниженні виходу готової продукції. Найбільш бажаним є подрібнення сировини до розмірів 0,5-1,5 мм.

Вологість сировини згідно із заявленим способом може складати 0-10 %. При збільшенні вологості понад 10 % погіршується змочуваність сировини екстрагентом та знижується вихід БАР. Найбільш оптимальною є вологість 6-8 %. Необхідні вологість сировини і ступінь її подрібнення можуть бути досягнуті будь-якими відомими способами, що відповідають меті винаходу.

Як сировину можна використовувати свіжозібрану траву підмаренника справжнього, яку попередньо можна ліофілізувати у середовищі рідкого азоту, з наступним вилученням азоту та отриманням замороженої сировини, яку подрібнюють в середовищі рідкого азоту до розміру частинок сировини від 0,5 до 1,5 мм, і в подальшому екстрагують розчинниками, заявленими у даному способі.

Заявлений спосіб передбачає рециркуляцію екстрагента у замкненій системі з метою запобігання можливості нанесення шкоди довкіллю і може бути здійснений за допомогою будь-якої установки, яка забезпечує проведення способу у обсязі заявленої сукупності ознак. Такою установкою може бути, наприклад, відома дослідно-промислова установка для екстрагування природних речовин зрідженими газами [12].

Згідно із заявленим способом екстракцію проводять з поетапною подачею екстрагенту. При швидкості подачі екстрагенту на першому етапі менш, ніж 100 мл/хв. на 1кг сировини, а на другому - менш, ніж 50 мл/хв на 1кг сировини помітно уповільнюється процес екстрагування. Збільшення заявленої питомої витрати екстрагенту понад 100 мл/хв·кг на першому етапі та понад 50 мл/хв·кг - на другому викликає надмірну витрату розчинника, але не призводить до подальшого підвищення виходу готового продукту.

Часові інтервали екстракції визначені експериментальним шляхом на основі вивчення динаміки процесу. Згідно із заявленим способом екстракція триває не менше 120 хвилин, з них перші принаймні 40 хвилин відповідають першому етапу екстракції, решта - другому етапу.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом і у своїй сукупності невідомі з джерел інформації, що дозволяє зробити висновок про його відповідність критерію новизни.

В результаті заявленого способу одержують екстракт підмаренника справжнього, що являє собою густу мазеподібну масу темно-зеленого кольору зі специфічним запахом сіна. Вихід екстракту із трави підмаренника справжнього складає 1,69-3,45 % в перерахунку на абсолютно суху сировину.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1.

Заявлений спосіб здійснюється за наступних вихідних умов: вологість сировини - 8 %, ступінь подрібненості - 0,5-1,5 мм, температура екстракції - 30 °С, час екстракції - 2 години, співвідношення сировина: дифторхлорметан - 1:4.

У проточний екстрактор завантажували 54 г подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірної посудини. Потім екстрактор підігрівали до 30 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи питому витрату екстрагента перші 40 хвилин 100 мл/хв на 1 кг, а інші 80 хв - 50 мл/хв на 1 кг сировини таким чином, щоб загальна його кількість становила 214 мл. Екстрагент видаляли з екстракту шляхом випарювання. Відокремлені пари екстрагенту конденсували при охолодженні і під тиском у зрідженому стані повертали у екстрактор завдяки замкненій системі "екстракція - регенерація", що забезпечує багаторазове використання екстрагенту і запобігає його виходу у оточуюче середовище. Вихід екстракту трави підмаренника справжнього склав 1,61 г, що становить 3,22 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Приклад 2.

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: температура екстракції - 40 °С, вологість сировини - 7 %.

У проточний екстрактор завантажували 53,5 г подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірної посудини. Потім екстрактор підігрівали до 40 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи подачу розчинника таким чином, щоб загальна його кількість становила 214 мл, а тривалість перколяції - 2 години. Після видалення екстрагента одержали 1,63 г екстракту трави підмаренника справжнього, що становить 3,26 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Приклад 3.

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: температура екстракції - 35 °С, співвідношення сировина: дифторхлорметан - 1:6, вологість сировини - 7 %.

У проточний екстрактор завантажували 53,5 г подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірної посудини. Потім екстрактор нагрівали до 35 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи подачу розчинника таким чином, щоб загальна його кількість становила 321 мл, а тривалість перколяції - 2 години. Після видалення екстрагента одержали 1,66 г екстракту трави підмаренника справжнього, що становить 3,32 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Приклад 4.

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: температура екстракції - 40 °С, співвідношення сировина: дифторхлорметан - 1:8, вологість сировини - 8 %.

У проточний екстрактор завантажували 54 г подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірної посудини. Потім екстрактор нагрівали до 35 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи подачу розчинника таким чином, щоб загальна його кількість становила 432 мл, а тривалість перколяції - 2 години. Після видалення екстрагента одержали 1,715 г екстракту трави підмаренника справжнього, що становить 3,43 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Приклад 5.

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: температура екстракції - 35 °С, співвідношення сировина: дифторхлорметан - 1:8, вологість сировини - 7 %.

У два проточні екстрактори завантажували по 5,35 кг подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірних посудин. Потім екстрактори нагрівали до 40 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи подачу розчинника таким чином, щоб загальна його кількість становила 85600 мл, а тривалість перколяції - 2 години. Після видалення екстрагента одержали 345 г екстракту трави підмаренника справжнього, що становить 3,45 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Приклад 6.

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: температура екстракції - 10 °С, співвідношення сировина: дифторхлорметан - 1:2, вологість сировини - 9 %.

У проточний екстрактор завантажували 54,5 г подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірної посудини. Потім екстрактор охолоджували до 10 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи подачу розчинника таким чином, щоб загальна його кількість становила 109 мл, а тривалість перколяції - 2 години. Після видалення екстрагента одержали 0,845 г екстракту трави підмаренника справжнього, що становить 3,43 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Приклад 7.

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: температура екстракції - 50 °С, співвідношення сировина: дифторхлорметан - 1:8.

У проточний екстрактор завантажували 54 г подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірної посудини. Потім екстрактор нагрівали до 50 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи подачу розчинника таким чином, щоб загальна його кількість становила 432 мл, а тривалість перколяції - 2 години. Після видалення екстрагента одержали 1,685 г екстракту трави підмаренника справжнього, що становить 3,37 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Приклад 8.

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: температура екстракції - 10 °С, співвідношення сировина: дифторхлорметан - 1:20, вологість сировини - 10 %.

У проточний екстрактор завантажували 55 г подрібненої трави підмаренника справжнього і заповнювали дифторхлорметаном з напірної посудини. Потім екстрактор нагрівали до 50 °С, після чого здійснювали перколяцію, регулюючи подачу розчинника таким чином, щоб загальна його кількість становила 1100 мл, а тривалість перколяції - 2 години. Після видалення екстрагента одержали 1,435 г екстракту трави підмаренника справжнього, що становить 2,87 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Порівняльні дані з прикладів 1-8 наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Порівняльний аналіз залежності виходу ліпофільного екстракту із трави підмаренника справжнього від режимів екстракції

Параметри екстракції	Приклади							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Температура екстракції, °C	30	40	35	40	35	10	50	35
Співвідношення маси сировини (г) до об'єму екстрагенту (мл)	1:4	1:4	1:6	1:8	1:8	1:2	1:8	1:20
Вихід екстракту від маси сировини, %	3,22	3,26	3,32	3,43	3,45	1,69	3,37	2,87
Час екстракції, год.	2	2	2	2	2	2	2	2
Вологість сировини, %	8	7	7	8	7	9	8	10

Дані таблиці 1 свідчать про те, що спосіб за прикладами 1-8 забезпечує вихід екстракту трави підмаренника справжнього 1,69-3,45 %. Реалізація способу за прикладом 6, в якому співвідношення сировини: екстрагент, температура екстракції і вологість сировини знаходяться на нижній заявленій межі, дає мінімальний вихід екстракту. Реалізація способу за прикладом 8, в якому співвідношення сировини: екстрагент і вологість сировини знаходяться на верхній заявленій межі, дає достатньо високий вихід екстракту, проте дозволяє зробити висновок, що вологість сировини у достатній мірі впливає на вихід екстракту, навіть при підвищенні температури екстракції до максимально прийнятної.

При порівнянні прикладів 1, 2, 3, 4, 5 та 6 видно, що підвищення температури та співвідношення сировини: екстрагент супроводжується збільшенням виходу ліпофільних БАР щонайменше в 1,47 раз. Спосіб за прикладами 4 та 5 дає найбільший вихід екстракту, і достатньою мірою показує вплив вологості сировини на вихід екстракту, тому найдоцільнішим з економічної точки зору є одержання екстракту за прикладом 5, оскільки процес потребує менших енергетичних витрат і не потребує додаткового висушування сировини.

Приклад 9.

Отриманий за прикладом 5 екстракт досліджувався на мікробіологічну чистоту згідно з вимогами ДФУ 1.2, п.2.6.12.

У результаті досліджень були отримані такі результати:

загальна кількість життєздатних аеробних бактерій - 370 КУО в 1 г екстракту;

загальна кількість життєздатних грибів - <10 КУО в 1 г екстракту.

Такі дані дозволяють зробити висновок про ефективність запропонованого способу, щодо отримання нестерильних субстанцій рослинного походження, а саме екстракту із трави підмаренника справжнього, з низькими показниками критеріїв прийнятності, що базуються на загальному числі аеробних мікроорганізмів (ТАМС) та загальному числі дріжджових та плісневих грибів (ТУМС).

Інші параметри винаходу не пов'язані безпосередньо з виходом екстракту, але у випадку їх недотримання вихід готового продукту може помітно знизитися внаслідок погіршення умов фільтрації, втрати екстрагенту, діючих компонентів тощо.

Запропонований спосіб одержання екстракту із трави підмаренника справжнього дозволяє виділити якісний готовий продукт з високим вмістом діючих речовин, є технологічним, реалізується на стандартному обладнанні. Спосіб передбачає багаторазову екстракцію рослинної сировини зрідженим газом з рециркуляцією останнього у замкненому циклі, що є екологічно безпечним.

Джерела інформації:

1. Hérissé H. Extraction de l'aspéruloside du *Galium verum* L. // Journ. Ph. et Ch., 8e sér. (1927)., Vol. VI, p. 447.

2. Nomura S. Studies on the iridoid glycoside of the plants of genus *Galium* // Yakugaku Zasshi.- Vol. 89 (1969), Issue 2, pp. 287-289.

3. Corrigan D., Timoney R.F., Donnelly D.M.X. Iridoids and alkanes in twelve species of *Galium* and *Asperula* // Phytochemistry, Vol. 17 (1978), Issue 7, pp. 1131-1133.

4. Bőjthe-Horváth K., Hetényi F., Kocsis Á. et al. Iridoid glycosides from *Galium verum* // Phytochemistry, Vol. 21 (1980), Issue 12, pp. 2917-2919.

5. Ivanović S., Vuković-Gačić B., Kundaković T., Kovačević, N. Introductory study of antimicrobial and antimutagenic activities of *Galium verum* L. (Rubiaceae) // Int. Cong. and 49th Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research, Erlangen, Germany (2001), Abst., pp. 101-102.

6. Mavi A., Terzi Z, Özgen U. at al. Antioxidant Properties of Some Medicinal Plants // Biol. Pharm. Bull. - Vol. 27(2004). - Issue 5, pp. 702-705

7. Demirezer L.Ö, Gürbüz F., Güvenalp Z. at al. Iridoids, Flavonoids and Monoterpene Glycosides from *Galium verum* // Turk J Chem. - Vol. 30 (2006), pp. 525-534.

8. Chun-Chao Z, Jian-Hua S., Xian L. at al. A new anthraquinone from *Galium verum* L. // Natural Product Research. - Vol. 20 (2006). - Issue 11, pp. 981-984.

9. Yiğit D, Yiğit N, Özgen U. An investigation on the anticandidal activity of some traditional medicinal plants in Turkey // Mycoses. - Vol. 52 (2009). - Issue 2, pp. 135-140.

10. Пат. 64792U, Україна, Заявл. 22.02.2011, Опубл. 25.11.2011, бюл. № 22/2011.

11. Пат. 85104C2, Україна, Заявл. 14.02.2007, Опубл. 25.12.2008, бюл. № 24/2008.

12. Пат. 59166U, Україна, Заявл. 20.09.2010, Опубл. 10.05.2011, бюл. № 9/2011.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

1. Спосіб одержання ліпофільного екстракту шляхом екстракції рослинної сировини, подрібненої до розміру часток 0,5-1,5 мм з вологістю до 10 %, під тиском зрідженим газом, переважно дифторхлорметаном, з постійним зливом екстракту та рециркуляцією екстрагента при здійсненні екстракції зі змінною швидкістю його подачі, який **відрізняється** тим, що екстракції піддають траву підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) при співвідношенні сировина:екстрагент 1:(2-20), переважно 1:(4-8), при температурі 10-50 °С, переважно 30-40 °С, протягом принаймні 2 годин, причому протягом перших 40 хв питома витрата екстрагенту становить 100 мл/хв на 1 кг сировини, а решту часу питому витрату екстрагенту зменшують вдвічі.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що екстрагент вибраний з C₁₋₄гідрофторуглеводнів.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як екстрагент використовують діоксид вуглецю, або суміш аліфатичних або аліциклічних вуглеводневих сполук, вибраних з ряду C₂₋₆, переважно C₂₋₄, і представлених переважно вуглеводнями з ряду алканів або циклоалканів, зокрема таких, як н-пропан або і-пропан, або н-бутан, або і-бутан, причому екстракцію здійснюють при температурі 10-30 °С.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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