



УКРАЇНА

(19) UA (11) 87114 (13) C2
(51) МПК (2009)
A61K 36/25 (2006.01)
A61P 11/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ПЛЮЩА, ЕКСТРАКТ, ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ ТА ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ

1

(21) a200604145
(22) 10.09.2004
(24) 25.06.2009
(86) PCT/EP2004/010092, 10.09.2004
(31) 103 45 343.1
(32) 19.09.2003
(33) DE
(46) 25.06.2009, Бюл.№ 12, 2009 р.
(72) РУНКЕЛЬ ФРАНК, DE, ШНАЙДЕР ВОЛЬФ-ГАНГ, DE, ШМІДТ ОЛІВЕР, DE, ЕНГЕЛЬХАРД ГЕОРГ МАКСІМІЛІАН, DE
(73) ЕНГЕЛЬХАРД АРЦНАЙМІТТЕЛЬ ГМБХ & КО. КГ, DE
(56) TRUTE ANDREAS ET AL: "In vitro antispasmodic compounds of the dry extract obtained from Hedera helix" XP009041755 Database accession no. PREV199799569819 & PLANTA MEDICA, Bd. 63, Nr. 2, 1997, Seiten 125-129
WAGNER H ET AL: "Extracts of Hedera helix leaves: HPLC analysis" XP001204524 Database accession no. EMB-1987018570 & DEUTSCHE APOTHEKER ZEITUNG 1986 GERMANY, Bd. 126, Nr. 48, 1986, Seiten 2613-2617
GB 2051575 A, 21.01.1981
DE 10112168 A1, 02.10.2002
(57) 1. Спосіб одержання з листя плюща екстракту, який містить діючі речовини гедеракозид С та α -гедерин, який полягає в тому, що
а) підготовляють перший, збагачений α -гедерином екстракт, який містить принаймні 3 % α -гедерину, причому перед екстракцією рослинної сировини здійснюють принаймні часткове ферментативне перетворення гедеракозиду С, що міститься у ній, на α -гедерин,
б) підготовляють другий, збагачений гедеракозидом С екстракт, який містить принаймні 5 % гедеракозиду С, причому перед екстракцією рослинну сировину обробляють гарячою водяною парою, та

2

в) перший та другий екстракти змішують між собою з одержанням екстракту з відрегульованим вмістом у ньому гедеракозиду С та відрегульованим вмістом α -гедерину.
2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що вміст α -гедерину в збагаченому ним екстракті становить принаймні 5 %.
3. Спосіб за п. 1 або 2, який відрізняється тим, що вміст гедеракозиду С у збагаченому ним екстракті становить принаймні 10 %, а вміст α -гедерину становить менше 2 %.
4. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який відрізняється тим, що відрегульований вміст гедеракозиду С в одержуваному на стадії в) екстракті становить від приблизно 3 до приблизно 10 %, а вміст α -гедерину - від приблизно 1 до приблизно 7 %.
5. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який відрізняється тим, що відрегульований вміст гедеракозиду С в одержуваному на стадії в) екстракті становить близько 6,5 %, а відрегульований вміст α -гедерину - близько 4,0 %.
6. Екстракт, одержаний способом за будь-яким з пп. 1-5.
7. Екстракт за п. 6, який відрізняється тим, що вміст у ньому гедеракозиду С становить принаймні 4 %, а вміст α -гедерину становить принаймні 2 %.
8. Екстракт за п. 6 або 7, який відрізняється тим, що вміст у ньому гедеракозиду С становить 6,5 %, а вміст α -гедерину - 4,0 %.
9. Застосування екстракту за будь-яким з пп. 6-8 для одержання лікарського засобу.
10. Застосування за п. 9, яке відрізняється тим, що лікарський засіб призначений для лікування захворювань дихальних шляхів.
11. Лікарський засіб, який містить екстракт за будь-яким з пп. 6-8.

Даний винахід стосується способу одержання екстракту з листя плюща, а також одержаного цим способом екстракту.

Екстракти з листя плюща завдяки наявності в

них спазмолітичної, відхаркувальної та антиобструктивної дії в даний час успішно використовуються насамперед для терапії захворювань дихальних шляхів. Наявність подібної дії в екстрактах з

(19) UA (11) 87114 (13) C2

листя плюща обумовлено головним чином вмістом у таких екстрактах терапевтично важливих компонентів, які відносяться до класу тритерпенових сапонінів. Основними сапонінами при цьому є біс-десмозидний гедеракозид С та α -гедерин, який утворюється з нього в результаті гідролізу складного ефіру. Іншим сапоніном, який можна виявити в екстрактах з листя плюща, є гедерагенін.

Екстракти з листя плюща, які одержані різними методами, часто мають з цієї причини ефективність, яка відрізняється між собою. Подібні розходження обумовлені тим, що вміст тих або інших компонентів в екстракті залежить не тільки від природного складу вихідної сировини, але й від конкретного методу одержання екстракту.

За результатами останніх досліджень було встановлено, що α -гедерин являє собою власне активну речовину, яка міститься в листі плюща, і сприяє спазмолітичній дії на бронхи (бронхоспазмолізу), оскільки ця речовина в результаті зв'язування з β -адренорецепторами і тим самим запуску відповідних каскадів викликає розслаблення гладкої мускулатури бронхіальної системи.

Екстракти з рослинних матеріалів, насамперед сухі екстракти, а також різноманітні методи одержання таких екстрактів широко представлені в літературі, яка присвячена фармації та насамперед приготуванню лікарських засобів.

Один зі способів одержання сухих екстрактів з рослинних матеріалів відомий, наприклад, із заявки DE 10112168 A1. Описаний у цій заявці спосіб повинен забезпечувати можливість регулювання вмісту в екстракті ліпофільних та гідрофільних речовин. Для цього рослинний матеріал пропонується піддавати принаймні двом екстракційним обробкам розчинниками, які мають різну ліпофільність, і окремо виділяти з них екстракти. Одержані екстракти сушать окремо один від одного і потім змішують між собою в необхідній пропорції. Таким шляхом можна регулювати вміст в екстракті ліпофільних та гідрофільних речовин. Такий спосіб в принципі повинен бути придатний і для одержання сухих екстрактів із плюща (*Hedera helix*). Однак у зазначеній публікації не описаний ні екстракт з цілеспрямовано відрегульованим у ньому вмістом α -гедерину і/або гедеракозиду С, ні спосіб, яким можна було б одержувати подібний екстракт.

Крім цього із заявки DE 3025223 A1 відома фармацевтична композиція на основі екстрактів плюща та спосіб їх одержання, при цьому до складу фармацевтичної композиції входить як діюча речовина екстракт, який містить 90% або 60% гедерасопоніну С або α -гедерин. Подібний екстракт одержують із застосуванням ацетону та метанолу. Для перетворення гедерасопоніну С, відповідно гедеракозиду С в α -гедерин і одержання тим самим екстракту, який містить тільки α -гедерин, 90%-ий екстракт відповідно до зазначеної заявки піддають омиленню гідроксидом натрію або гідроксидом калію.

Однак і в цій публікації не описаний спосіб, яким можна було б одержувати екстракт з відрегульованим на будь-яку величину вмістом у ньому α -гедерину та гедеракозиду С.

Разом з тим для забезпечення відтвореної

терапевтичної дії доцільно мати екстракти з плюща із вмістом в них діючих речовин, яка задається.

Недолік екстрактів, які застосовувалися дотепер, полягає далі в необхідності їх багаторазового введення в організм для забезпечення негайної й довготривалої спазмолітичної дії на бронхи, яка викликається α -гедерином. Можлива причина цього полягає в недостатній біодоступності α -гедерину, оскільки, наприклад, вже до моменту прийому екстрактів у них міститься мало α -гедерину. З іншого боку, і спочатку присутній в екстракті α -гедерин порівняно швидко резорбується *in vivo*, через що для досягнення терапевтичної дії існує необхідність багаторазового введення в організм екстрактів, які його містять.

Виходячи з вищесказаного, в основу даного винаходу була покладена задача розробити спосіб одержання екстракту, а також запропонувати екстракт, який забезпечував би швидку біодоступність α -гедерину та її збереження на незмінному рівні протягом більш тривалого періоду часу.

Покладена в основу винаходу задача вирішується за допомогою способу одержання екстракту з листя плюща з регульованим вмістом в екстракті гедеракозиду С та α -гедерину, який полягає в тому, що

а) підготовляють перший, збагачений α -гедерином екстракт,

б) підготовляють другий, збагачений гедеракозидом С екстракт та

в) перший та другий екстракти змішують між собою з одержанням екстракту з відрегульованим вмістом у ньому гедеракозиду С та відрегульованим вмістом α -гедерину.

Пропонований у винаході спосіб дозволяє одержувати екстракт, який містить, по-перше, α -гедерин як біологічно активну речовину з швидко наступаючою дією та, по-друге, гедеракозид С, який *in vivo* перетворюється в α -гедерин. При цьому перший екстракт значно збагачений α -гедерином, а другий екстракт - гедеракозидом С.

Перший екстракт можна одержувати, наприклад, способом, при здійсненні якого вихідний матеріал, наприклад, висушену лікарську рослинну сировину, спочатку подрібнюють, потім піддають ферментації і після цього піддають попередньому набухання, наприклад, у суміші спирту з водою, зокрема у 30%-вому етанолі, та екстракційній обробці. На завершення екстракт можна піддавати, наприклад, випарюванню в плівковому випарному апараті та розпилювальному сушінню. Залежно від необхідного вмісту α -гедерину в екстракті ферментації можна піддавати всю кількість висушеної лікарської рослинної сировини й таким шляхом перетворювати весь присутній у ньому гедеракозид С в α -гедерин. В іншому варіанті ферментації можна також піддавати тільки частину лікарської рослинної сировини, а іншу його частину домішувати тільки для попереднього набухання в етанолі, одержуючи таким чином екстракт, який лише значно збагачений α -гедерином.

Під "ферментацією" згідно із даним винаходом мається на увазі розкладання, відповідно перетворення присутніх у вихідному матеріалі компонентів в інші речовини при додаванні до вихідного

матеріалу ферментаційного середовища, наприклад, води, з узгодженням при необхідності певних параметрів, наприклад, часу та температури, з особливостями процесу ферментації. Така нова стадія ферментації надає можливість цілеспрямованого одержання збагачених α -гедерином екстрактів.

Листя плюща можна при цьому використовувати, наприклад, у вигляді висушеної лікарської рослинної сировини. Перевага, пов'язана із застосуванням при приготуванні лікарського засобу висушеної лікарської рослинної сировини, полягає завдяки кращій її здатності до зберігання в більшій за певних умов зручності роботи з ним, ніж зі свіжозібраними лікарськими рослинами. Сказане, однак, не виключає можливості застосування при одержанні пропонованого у винаході екстракту свіжого листя плюща.

Висушені лікарські рослини та їх частини називають у фармації лікарською рослинною сировиною. Подібні, представлені у вигляді лікарської рослинної сировини лікарські рослини застосовують або в незмінному, або в подрібненому вигляді.

Другий екстракт можна одержувати, наприклад, способом, при здійсненні якого висушену лікарську рослинну сировину відразу ж після її подрібнювання змішують із екстрагентом, наприклад, 30%-вим етанолом, і піддають екстракційній обробці традиційними методами. В іншому варіанті подрібнену лікарську рослинну сировину можна перед екстракційною обробкою етанолом обробляти гарячою водяною парою. За результатами проведених експериментів було встановлено, що подібна обробка дозволяє підвищити в екстракті вміст гедеракозиду С, відповідно стабілізувати його вміст щодо вихідного вмісту в лікарській рослинній сировині та понизити вміст α -гедерину. Таким шляхом одержують екстракти, які можна використовувати на стадії б) пропонованого у винаході способу як другого, збагаченого гедеракозидом С екстракту. Така нова стадія обробки парою надає можливість цілеспрямованого одержання збагачених гедеракозидом С екстрактів.

На стадії а) пропонованого у винаході способу найбільш краще використовувати збагачений α -гедерином екстракт з вмістом α -гедерину принаймні 3%, насамперед 5%.

На стадії б) пропонованого у винаході способу краще далі використовувати збагачений гедеракозидом С екстракт з вмістом гедеракозиду С принаймні 5%, насамперед принаймні 10%, та вмістом α -гедерину менше 2%.

При цьому на стадії в) пропонованого у винаході способу краще одержувати екстракт з вмістом гедеракозиду С, який становить від приблизно 3 до приблизно 10%, насамперед, який становить приблизно 6,5%, та вмістом α -гедерину, який становить від приблизно 1 до приблизно 7%, насамперед, який становить приблизно 4,0%.

Покладена в основу винаходу задача вирішується також за допомогою екстракту, одержаного пропонованим у винаході способом. Покладена в основу винаходу задача вирішується насамперед за допомогою одержаного пропонованим у винаході способом екстракту з листя плюща з відрегульованим вмістом гедеракозиду С, який становить

від приблизно 3 до приблизно 10%, насамперед, який становить приблизно 6,5%, та вмістом α -гедерину, який становить від приблизно 1 до приблизно 7%), насамперед, який становить приблизно 4,0%.

Перевага пропонованого у винаході екстракту завдяки відрегульованому вмісту в ньому обох вищевказаних діючих речовин полягає в тому, що діюча речовина α -гедерин після введення екстракту, у якому він спочатку присутній як такий, починає швидко надходити в організм. Поряд із цим гедеракозид С, який міститься в екстракті окрім α -гедерину, резорбується *in vivo* із затримкою в часі, відповідно поступово перетворюється в α -гедерин, і тому після витрачання всього спочатку присутнього в екстракті α -гедерину в організм продовжує надходити перетворений з гедеракозиду С α -гедерин. Пов'язана із цим перевага полягає в збільшенні тривалості терапевтичної дії екстракту, відповідно лікарського засобу, що його містить.

Цей ефект був підтверджений експериментально. У цьому відношенні вдалося встановити, що при застосуванні пропонованого у винаході екстракту, вміст у якому обох діючих речовин α -гедерину та гедеракозиду С - було відрегульовано на значення, яке перебуває в зазначеному вище оптимальному інтервалі, концентрація α -гедерину в плазмі крові швидко наростала та зберігалася на постійному рівні. Порівняльний же екстракт із більш високим вмістом гедеракозиду С і більш низьким вмістом α -гедерину на відміну від пропонованого у винаході екстракту для досягнення порівнянних з ним значень концентрації α -гедерину в плазмі крові було потрібно вводити в організм значно частіше. Відповідно до цього застосування пропонованого у винаході нового екстракту дозволяє вже після однократного його введення в організм досягти такої концентрації α -гедерину в плазмі крові, якої досить для забезпечення і тривалого збереження спазмолітичної дії на бронхи.

При цьому найбільш краще застосовувати одержаний пропонованим у винаході способом екстракт з вмістом гедеракозиду С близько 6,5% і вмістом α -гедерину близько 4,0%.

Даний винахід відноситься далі до застосування пропонованого в ньому екстракту для одержання лікарського засобу, призначеного насамперед для лікування захворювань дихальних шляхів, а також до лікарського засобу, який містить пропонований у винаході екстракт.

Пропоновані у винаході екстракти з відрегульованим вмістом у них гедеракозиду С і α -гедерину найбільш кращі для застосування як лікарські засоби, завдяки можливості досягнення з їх допомогою відтворюваної терапевтичної дії, а також завдяки негайному первинному, а потім постійному, що зберігається протягом більш тривалого періоду часу, надходженню в організм α -гедерину, який являє собою біологічно активну речовину, що має спазмолітичну дію.

Відповідно до цього пропонований у винаході лікарський засіб можна використовувати для лікування захворювань дихальних шляхів, таких як інфекційно-запальні захворювання дихальних шляхів, наприклад, пневмонія, трахеїт, бронхіт та

ін., а також обструктивні та рестриктивні захворювання легенів, такі як хронічний бронхіт, бронхіальна астма, бронхоектазія та ін., тобто можна застосовувати при захворюваннях дихальних шляхів, при яких бажано забезпечити розслаблення порушеної хворобою мускулатури.

Лікарський засіб може бути представлений у вигляді капсул, таблеток, драже, супозиторіїв, гранулята, порошку, розчинів, паст, емульсій, аерозольних складів, мазей та масел. Найбільш кращі при цьому пероральні лікарські форми. Лікарський засіб може також містити допоміжні речовини, які традиційно використовуються в технології приготування лікарських засобів. Цілий ряд придатних для застосування в цих цілях речовин описаний, наприклад, в A. Kibbe, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3-є вид., видавництво American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press, 2000.

Інші переваги винаходу випливають із розглянутого нижче прикладу його здійснення, який ілюструється прикладеними до опису графічними матеріалами, на яких показана схема гідролізу гедеракозиду С до α -гедерину.

Очевидно, що розглянуті вище і представлені в наступному описі відмітні ознаки винаходу можна використовувати не тільки в їх зазначеній у кожному конкретному випадку комбінації, але й в

інших сполученнях між собою або навіть індивідуально, не виходячи при цьому за обсяг даного винаходу.

Приклад

1. Характеристики резорбції речовин *in vivo*, які містяться в листі плюща, (при дослідженні на щурах)

За результатами дослідження резорбції з використанням системи біофармацевтичної класифікації (СБК) було встановлено, що α -гедерину властиві середні показники всмоктування (10-90%). За тих самих умов гедеракозид С не проникав крізь мембрани, у зв'язку із чим можливу резорбцію гедеракозиду С треба було досліджувати в перерахунку на α -гедерин. Із цією метою дослідження резорбції проводили на щурах.

Нижче описана методика, відповідно до якої досліджували вплив на концентрацію α -гедерину в плазмі введення двох різних екстрактів. Крім цього досліджували зміну концентрації α -гедерину в плазмі при однократному введенні екстракту в організм у порівнянні з багаторазовим його введенням в організм і при взятті проб крові в різні моменти часу після введення екстракту, а також визначали квоту резорбції α -гедерину. В експериментах використовували два екстракти, розподіл сапонінів у яких представлено нижче в таблиці 1.

Таблиця 1

Розподіл сапонінів в екстрактах

	Вміст гедеракозиду С [%]	Вміст α -гедерину [%]
Екстракт А	14,5	0,9
Екстракт Б	6,5	4,0

Для внутрішньовенного введення необхідну кількість екстракту розчиняли в 11%-вому (за масою) етанолі, одержаний розчин фільтрували та вводили шляхом ін'єкції. При цьому розчин екстракту прагнули вводити в об'ємі, який дорівнює 2 мл (відповідна доза: 25 мг на кг маси тіла). Через 5 хв після ін'єкції у тварин брали проби крові. Об'єм кожної проби повинен був становити приблизно по 2 мл цільної крові, до якої для уповільнення її згортання додавали ЕДТК.

Для перорального введення приготували суспензії екстрактів у гліцерині. Тваринам в глотку вводили приблизно по 2 мл цих суспензій (відповідні дози: 1000 і 166,66 мг на кг маси тіла). Через 1 та 3 години після кожного останнього введення у тварин брали по 2 мл крові. Маса тварин становила в середньому близько 200 г, а об'єм крові дорівнював приблизно 20 мл.

Результати аналізів наведені нижче в таблиці 2.

Таблиця 2

Оглядові дані шляху введення екстрактів та концентрації α -гедерину в плазмі

Тип проби	Шлях введення	Екстракт, що вводиться	Доза, що вводиться, [мг/кг маси тіла]	Момент взяття крові	Концентрація α -гедерину в плазмі [мкг/мл]
1	2	3	4	5	6
Сліпа проба	не вводили	-	-	-	0,0
Порівняльна	внутрішньовенно	А	25	через 5 хв після введення	2,3
Проба	однократно перорально	А	1000	через 1 год після введення	3,3
Проба	однократно перорально	А	1000	через 3 год після введення	6,3

1	2	3	4	5	6
Проба	перорально двічі на день протягом 3-х днів	А	166,66	через 1 год після останнього введення	20,8
Порівняльна	внутрішньо	Б	25	через 5 хв після введення	10,0
Проба	однократно перорально	Б	1000	через 1 год після введення	11,1
Проба	однократно перорально	Б	1000	через 3 год після введення	14,4
Проба	перорально двічі на день протягом 3-х днів	Б	166,66	через 1 год після останнього введення	14,9

Гедеракозид С не вдалося виявити в жодній пробі. З наведених вище в таблиці 2 даних випливає, що при багаторазовому введенні екстракту з меншим вмістом у ньому α -гедерину вимірювана концентрація α -гедерину в плазмі була вищою, ніж

при порівняльному введенні екстракту з більшим вмістом у ньому α -гедерину. Цей результат вдалося пояснити шляхом перерахунку одержаних значень, результати якого представлені нижче в таблиці 3.

Таблиця 3

Квоти резорбції при введенні екстракту А (який містить 14,5% гедеракозиду С та 0,9% α -гедерину)

Тип введення/час взяття крові	Концентрація α -гедерину в плазмі [мкг/мл]	Максимально досяжна концентрація (теоретична)	Квота резорбції [%]	Максимально досяжний рівень у крові при розгляді загального вмісту сапонінів [мкг/мл]	Квота резорбції [%]
Однократне введення/через 1 год після введення	3,3	90	3,7	980	0,33
Однократне введення/через 3 год після введення	6,3	90	7,0	980	0,64
Багаторазове введення/через 1 год після введення	20,8	90	23,1	980	2,12

Загальний вміст сапонінів розраховується з урахуванням молярних мас обох компонентів і зазначений в перерахунку на α -гедерин. У цьому випадку загальний вміст сапонінів в екстракті А становив 9,8% у перерахунку на α -гедерин. Об'єм крові приймали при цьому таким, що дорівнював 20 мл.

Результати розрахунків для екстракту Б наведені нижче в таблиці 4.

Таблиця 4

Квоти резорбції при введенні екстракту Б (який містить 6,5% гедеракозиду С та 4,0% α -гедерину)

Тип введення/час взяття крові	Концентрація α -гедерину в плазмі [мкг/мл]	Максимально досяжна концентрація (теоретична)	Квота резорбції [%]	Максимально досяжний рівень у крові при розгляді загального вмісту сапонінів [мкг/мл]	Квота резорбції [%]
Однократне введення/через 1 год після введення	11,1	400	2,8	800	1,38
Однократне введення/через 3 год після введення	14,4	400	3,6	800	1,80
Багаторазове введення/через 1 год після введення	14,9	400	3,7	800	1,86

Загальний вміст сапонінів розраховується з урахуванням молярних мас обох компонентів і

зазначений в перерахунку на α -гедерин. У цьому випадку загальний вміст сапонінів в екстракті Б

становив 9,8% у перерахунку на α -гедерин. Об'єм крові приймали при цьому рівним 20 мл.

Резюмуючи сказане вище, можна констатувати, що при багаторазовому введенні збагачених α -гедерином і збіднених α -гедерином екстрактів концентрація α -гедерину в плазмі досягає порівнянних між собою рівнів. Однак з урахуванням вмісту гедеракозиду С в обох екстрактах і обчисленому загальному вмісту обох сапонінів у перерахунку на α -гедерин обидва екстракти лише незначно різняться між собою. Грунтуючись на цих результатах, слід виходити з того, що *in vivo* відбувається відщеплення залишку цукру, який знаходиться в положенні С28, від гедеракозиду С з утворенням α -гедерину, що резорбується. Цей процес, тобто перетворення гедеракозиду С в α -гедерин, графічно проілюстрований на прикладеній до опису схемі.

Результати експериментів, які підтверджують наявність у α -гедерину на відміну від гедеракозиду С спазмолітичної активності *in vitro*, і виявлення в плазмі α -гедерину, а не гедеракозиду С, дозволяють виходити з того, що концентрація α -гедерину в крові значною мірою корелює з підтвердженою багатьма клінічними дослідженнями терапевтичною дією.

Тому при застосуванні оптимізованого відносно терапевтичної дії екстракту, концентрація α -гедерину в плазмі в принципі завжди повинна швидко досягати одного і того самого рівня, який зберігається й при багаторазовому введенні екстракту в організм. Цій умові задовольняє екстракт Б, вже через одну годину після введення якого в організм концентрація α -гедерину в плазмі на відміну від екстракту А досягає рівня, порівнянного з концентрацією α -гедерину в плазмі після багаторазового введення екстракту в організм. Екстракт Б з вмістом гедеракозиду С, який дорівнює 6,5%, і вмістом α -гедерину, який дорівнює 4,0%, відрізнявся швидким настанням дії й відтворюваністю терапевтичної дії.

З урахуванням сказаного вище оптимальні для терапевтичної дії межі вмісту гедеракозиду С і α -гедерину в екстракті можна виходячи з екстракту Б обмежити наступними значеннями;

гедеракозид С:	5-8%,
α -гедерин:	3-5%.

2. Одержання оптимізованого екстракту з листя плюща

Відмітна риса оптимізованого екстракту з листя плюща полягає в тому, що він має у всіх партіях однаковий у певних межах склад у перерахунку на його компоненти гедеракозид С і α -гедерин. При цьому вміст гедеракозиду С у такому екстракті повинен знаходитися в межах від 50 до 80 мг/г, а вміст α -гедерину - у межах від 30 до 50 мг/г. Для дотримання зазначених специфікацій між собою змішували декілька екстрактів. Однак екстракти, які одержані традиційним способом, лише умовно придатні для застосування в подібних процесах змішування через часто недостатньо високий вміст у них відповідної діючої речовини.

Нижче описані методи екстракції, кожний з

одержуваних якими екстрактів з листя плюща відрізняється високим вмістом одного із двох гедеро-сапонінів, відповідно інший з яких одночасно із цим міститься в екстракті лише у винятково малих кількостях.

а) Одержання збагаченого α -гедерином екстракту

При екстракційній обробці листя плюща цим методом необхідною передумовою для регулювання співвідношення між гедеракозидом С і α -гедерином є цілеспрямоване відщеплення в процесі екстракції залишку цукру, який знаходиться в положенні С28 від гедеракозиду С. Оскільки перетворення гедеракозиду С в α -гедерин по суті відбувається кількісно, як вихідний матеріал для одержання збагаченого α -гедерином екстракту придатна практично будь-яка партія листя плюща.

Після перевірки якості продукції відділом контролю якості й одержання від нього дозволу на випуск продукції частину лікарської рослинної сировини (листя плюща DAC) піддавали інтенсивному подрібнюванню в млині й потім подрібнений матеріал просівали через сито для гарантованого відсівання тих шматочків, розмір яких перевищував максимально припустимий розмір, що дорівнював 2×2 мм. Просіяний матеріал додатково перевіряли візуально на наявність у ньому більших шматочків і сторонніх домішок.

До подрібненого зразка додавали водний компонент у кількості, яка припадала на 6 частин екстрагенту (етанол у концентрації 30% (за масою)). Цю суміш ферментували протягом 60 хв при 30°C, періодично перемішуючи її.

Після цього додавали 96%-ий етанол у кількості, яка припадала на 6 частин екстрагенту, і суміш гомогенізували шляхом її перемішування.

Після 6-годинної стадії попереднього набухання елюат відокремлювали, а лікарську рослинну сировину, що залишилася, перколювали іншими 6-а частинами екстрагенту.

Об'єднані елюати для видалення з них дрібних часточок лікарської рослинної сировини ще раз фільтрували й гомогенізували, після чого сушили в плівковому випарному апараті при температурі 55°C і тиску 150 мбар до одержання згущеної маси. Цю масу гомогенізували й потім піддавали розпилювальному сушінню при температурі в інтервалі від 45 до 60°C, одержуючи сухий екстракт із листя плюща.

Для перевірки цього способу одержання екстракту одержували наступні екстракти. З листя плюща з 3,91%-вим вмістом у них гедеракозиду С і 0,20%-вим вмістом α -гедерину одержували один екстракт традиційним способом (подрібнювання висушеного зразка з безпосереднім наступним змішуванням з 30% (за масою) етанолу та екстракцією) і один екстракт новим способом. Результати хроматографічного аналізу цих екстрактів на вміст у них α -гедерину та гедеракозиду С наведені нижче в таблиці 5.

Таблиця 5

Вміст α -гедерину та гедеракозиду С в екстрактах

	α -гедерин (%)	Гедеракозид С (%)	Загальний вміст сапонінів, розрахований у вигляді гедеракозиду С (%)
Традиційний спосіб	0,53	8,68	9,54
Новий спосіб	4,74	0	7,71

З наведених у таблиці даних випливає, що при екстракції новим способом гедеракозид С, який міститься в листках плюща вдалося повністю перетворити в α -гедерин.

Оскільки й загальний вміст сапонінів, розрахований у вигляді гедеракозиду С, має той же порядок величин, знаючи відповідну концентрацію сапонінів у лікарській рослинній сировині й враховуючи коефіцієнт збагачення екстракту α -гедерином, який дорівнює приблизно 2-3, можна оцінити кінцевий вміст α -гедерину в екстракті.

Відповідно до цього для перетворення в α -гедерин тільки деякої частини гедеракозиду С, який міститься в лікарській рослинній сировині, ферментації у воді можна піддавати тільки певну частину лікарської рослинної сировини, не змінюючи при цьому всі інші параметри процесу екстракції. Після 60-хвилинної ферментації цієї деякої кількості лікарської рослинної сировини до неї потім для 6-годинного попереднього набухання додають іншу кількість лікарської рослинної сировини та етанол. Знаючи відповідну концентрацію сапонінів у лікарській рослинній сировині й враховуючи коефіцієнт збагачення екстракту α -гедерином, який дорівнює приблизно 2-3, можна оцінити кінцевий вміст α -гедерину в екстракті.

Таким чином, за допомогою пропонуваного у винаході способу за рахунок передбаченої в ньому стадії ферментації можна цілеспрямовано варіювати склад сухого екстракту з листя плюща без значних витрат часу й засобів. Цілеспрямоване регулювання вмісту α -гедерину в сухому екстракті, відповідно, лікарському засобі позитивно позначається на ефективності екстракту, враховуючи крім іншого численні публікації про дієвість α -гедерину.

б) Одержання з листя плюща сухих екстрактів з підвищеним вмістом у них гедеракозиду С

В даному випадку при екстракційній обробці листя плюща необхідною передумовою для регулювання співвідношення між гедеракозидом С та α -гедерином є цілеспрямоване пригнічення в про-

цесі екстракції відщеплення залишку цукру, що знаходиться в положенні С28, від гедеракозиду С. При виборі партії лікарської рослинної сировини необхідно стежити за тим, щоб на переробку потрапляло листя з низьким вмістом у них α -гедерину. При цьому рекомендується використовувати листя із вмістом у них α -гедерину менше 0,5% у перерахунку на висушену лікарську рослину сировину.

Аналіз гомогенного зразка листя плюща показав наступний вміст у них обох сапонінів:

гедеракозид С: 6,37%,

α -гедерин: 0,85%.

З такої лікарської рослинної сировини одержували по три екстракти проведенням екстракції відповідно з наступними методами.

З г висушеної та подрібненої до шматочків розміром близько 3х3 мм лікарської рослинної сировини протягом декількох секунд обробляли гарячою водяною парою. Після цього оброблену таким шляхом лікарську рослину сировину протягом приблизно 6 год піддавали попередньому набухання в присутності 18 г екстрагенту (етанол у концентрації 30% (за масою)). Лікарську рослину сировину, яка залишилася після зливу місцели, додатково перколювали 18 г екстрагенту. Цю місцелю сушили у вакуумній сушильній шафі. В іншому варіанті сушіння можна проводити, наприклад, у плівковому випарному апараті, наприклад, при температурі 55°C та тиску 150 мбар з наступним розпилювальним сушінням при 45-60°C.

Температуру в процесі екстракції бажано підтримувати в інтервалі від приблизно 20 до приблизно 40°C, насамперед на рівні приблизно 30°C. Співвідношення між лікарською рослинною сировиною та екстрагентом може при цьому становити, наприклад, 1:12.

Результати аналізу одержаних таким шляхом екстрактів наведені нижче в таблиці 6.

Таблиця 6

Вміст гедеракозиду С та α -гедерину в оброблених парою екстрактах

Зразок	Вміст гедеракозиду С (%)	Вміст α -гедерину (%)	Вміст гедерасAPONІВ, розрахований у вигляді гедеракозиду С (%)
Вихідна лікарська рослинна сировина	6,37	0,85	7,75
Оброблений парою екстракт 1	14,33	0,85	15,71
Оброблений парою екстракт 2	14,26	0,85	15,64
Оброблений парою екстракт 3	14,57	0,71	15,72

Згідно з наведеними у таблиці даними вміст α -гедерину в одержаному за описаною вище методикою сухому екстракті з листя плюща відповідав кількості α -гедерину, яка максимально містилася у вихідному листі. У цілому ж таким шляхом одержали стабільні при зберіганні екстракти з високим вмістом у них гедеракозиду С та дуже низьким вмістом α -гедерину. При застосуванні партій листя плюща із вмістом α -гедерину нижче 0,5% максимальний вміст α -гедерину в одержаному екстракті також можна прийняти таким, що дорівнює 0,5%.

в) Змішування обох збагачених екстрактів

Описаними в пп. 2а) та 2б) методами екстракції з листя плюща можна одержувати екстракти, кожний з яких збагачений тільки одним із двох гедерасAPONІВ.

З обох збагачених тим або іншим гедерасAPONІНОМ екстрактів на завершення приготують суміш із одержанням готового спеціального екстракту з вмістом у ньому гедеракозиду С у межах від 5 до 8% та вмістом α -гедерину в межах від 3 до 5%.

Приклад

1 частина екстракту А з вмістом α -гедерину близько 7,5% +

1 частина екстракту Б з вмістом гедеракозиду С близько 13,0% і вмістом α -гедерину 0,5% →

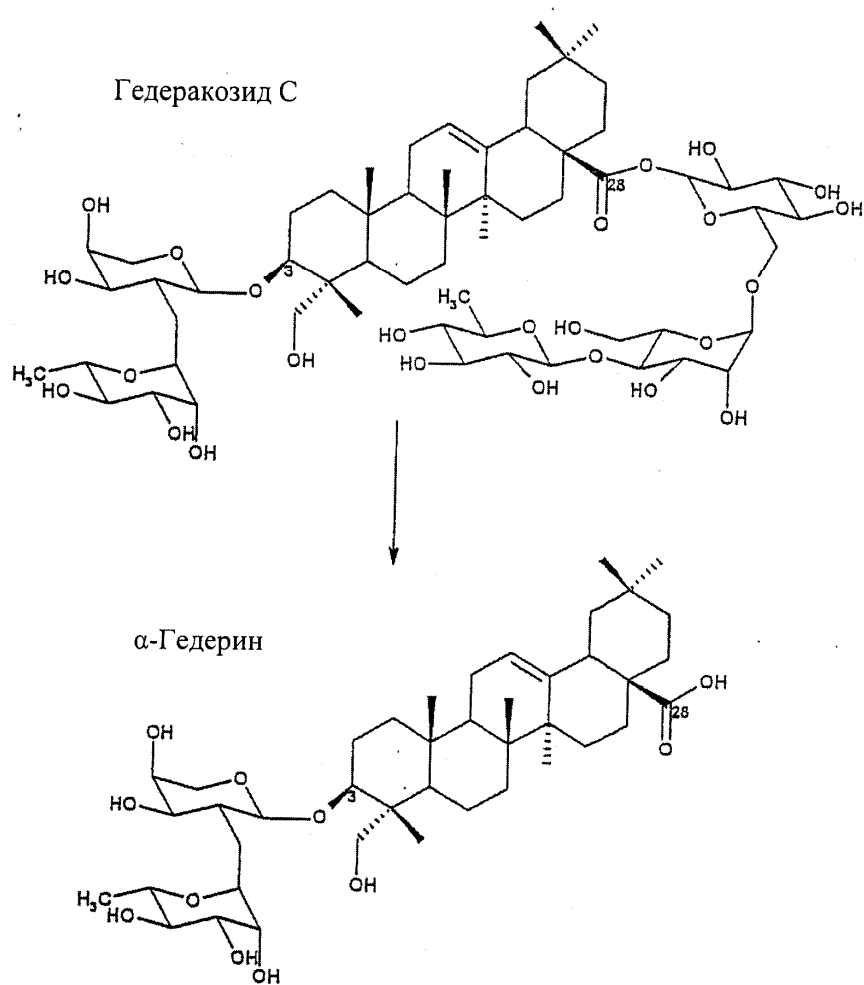
екстракт з вмістом гедеракозиду 6,5% та вмістом α -гедерину 4,0%.

Очевидно, що це рівняння щоразу необхідно узгоджувати з конкретним вмістом гедерасAPONІВ

в обох збагачених ними екстрактах, однак у принципі концентрацію гедерасAPONІВ можна також відрегулювати в обох збагачених ними екстрактах на зазначені вище в прикладі значення змішування між собою різних екстрактів з різним ступенем збагачення їх одним або іншим гедерасAPONІНОМ.

Відповідно до сказаного вище, одержаний пропонується у винаході способом екстракт можна використовувати для приготування на його основі лікарського засобу, який вже при однократному його застосуванні забезпечує дуже швидке надходження в організм власне діючої речовини (α -гедерину). Одночасно із цим високий вміст у лікарському засобі гедеракозиду С дозволяє довгостроково підтримувати високий рівень α -гедерину в плазмі крові, оскільки гедеракозид С безупинно перетворюється в організмі в α -гедерин.

Тим самим відпадає необхідність у багаторазовому прийомі лікарського засобу, що поліпшує дотримання пацієнтом режиму та схеми лікування. Одним з показань до застосування екстрактів плюща є захворювання дихальних шляхів, що часто зустрічаються в дітей. Оскільки діти найчастіше неохоче приймають ліки, пропонується у винаході лікарський засіб дозволяє досягти необхідного терапевтичного ефекту при менш частому його застосуванні.



Фіг. 1