



УКРАЇНА

(19) UA (11) 56259 (13) U
(51) МПК (2011.01)
A61K 36/86 (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)
A61P 37/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ПРОТИВИРАЗКОВОЮ ДІЄЮ

1

2

(21) u201006950

(22) 07.06.2010

(24) 10.01.2011

(46) 10.01.2011, Бюл.№ 1, 2011 р.

(72) ДРОГОВОЗ СВІТЛАНА МЕФОДІЇВНА, ХВОРОСТ ОЛЬГА ПАВЛІВНА, КУЦЕНКО ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ГОНТОВА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА, МІШНЄВА КАТЕРИНА ДМИТРІВНА, ПОЗДНЯКОВА АНАСТАСІЯ ЮРІЇВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб одержання засобу з противиразковою дією шляхом екстракції водою трави фіалки, що

включає принаймні трикратну екстракцію сировини, об'єднання одержаних витяжок, фільтрацію та упарювання, який **відрізняється** тим, що екстракцію здійснюють при температурі 90°C протягом чотирьох годин при загальному співвідношенні сировини та екстрагента 1:15, сировину додатково промивають 1,5-кратною кількістю екстрагента, одержаний змив додають до об'єднаних витяжок, відстоюють протягом 10-12 годин, фільтрують, концентрують до 1/3 попереднього об'єму та упарюють до втрати в масі 20-25%.

Корисна модель відноситься до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до способів одержання комплексів біологічно активних речовин з рослинної сировини, а саме засобу з противиразковою дією, який може бути використаний в якості активної субстанції при створенні відповідних лікарських препаратів у різних лікарських формах.

У сучасній медичній практиці широко використовують лікарські засоби на основі рослинної сировини, які, на відміну від більшості засобів синтетичного походження, практично не мають побічної дії, відрізняються низькою алергенністю і токсичністю та придатні до довготривалого застосування без формування звикання і залежності.

Відомий спосіб одержання поліфенольного комплексу з листя винограду з переважно противиразковою активністю [1], який полягає у екстракції сировини 50% спиртом етиловим при співвідношенні сировина-екстрагент - 1:10 з подальшим упарюванням до водного залишку, фільтрацією, реасорбцією фенольних сполук з осаду водою, об'єднанням фільтрату з одержаним водним розчином, упарюванням і сушінням. Вихід готового продукту - 15,8%.

Недоліком відомого способу можна вважати використання у значних об'ємах 50% спирту етилового, низький вихід готового продукту.

Відомий також спосіб одержання комплексу полісахаридів з мембраностабілізуючою та імуномодельючою дією [2], згідно з яким траву фіалки екстрагують водою при кімнатній температурі тричі по 12 годин при загальному співвідношенні сировина - екстрагент 1:17, одержані екстракти об'єднують і концентрують до 1/25-1/30 попереднього об'єму, висаджують комплекс полісахаридів 2-3 кратною кількістю 96% спирту етилового. Очищений осад знов відокремлюють фільтрацією і висушують. Вихід готового продукту становить 6-11% від маси повітряносухої сировини.

До недоліків відомого способу можна віднести додаткові витрати 96% спирту етилового, довготривалість процесу, низький вихід готового продукту. Одержаний за таким способом комплекс полісахаридів не має противиразкової дії.

Завданням корисної моделі є створення способу одержання засобу з противиразковою дією, який завдяки здійсненню екстракції водою при підвищеній температурі у сукупності з іншими заявленими параметрами способу, дозволяє одержати практично нетоксичний засіб з вираженою фармакологічною дією, який може бути використаний в якості лікарської субстанції при створенні засобів у різних лікарських формах для застосування у різних галузях медицини.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з противираз-

(19) UA (11) 56259 (13) U

ковою дією шляхом екстракції водою трави фіалки, що включає принаймні трикратну екстракцію сировини, об'єднання одержаних витяжок, фільтрацію та упарювання, корисною моделлю передбачено, що екстракцію здійснюють при температурі 90°C протягом чотирьох годин при загальному співвідношенні сировини до екстрагента 1:15, сировину додатково промивають 1,5 кратною кількістю екстрагента, одержаний змив додають до об'єднаних витяжок, відстоюють протягом 10-12 годин, фільтрують, концентрують до 1/3 попереднього об'єму та упарюють до втрати в масі 20-25%.

Трава фіалки представляє собою офіційний вид сировини - суміш трави фіалки триколірної та фіалки польової. Траву фіалки використовують у вигляді настоїв при лікуванні запальних захворювань бронхо-легеневої та сечовивідної системи. Екстемпоральні засоби на основі трави фіалки мають відхаркувальну, муколітичну, десенсибілізуючу, протизапальну та діуретичну активності [3].

Авторами вперше виявлено невідому неочевидну противиразкову дію екстракту з трави фіалки, одержаного за заявленим способом.

Фіалка триколірна та фіалка польова ростуть на території України, підлягають заготівлі в промислових масштабах та складають достатню сировинну базу для здійснення заявленого засобу.

Всі параметри заявленого способу визначено експериментальним шляхом в результаті проведення численних дослідів.

Вибір екстрагента здійснювали за критерієм виходу екстрактивних речовин, суми окиснюваних фенолів, водорозчинних полісахаридів в екстрактах, вилучених з трави фіалки, та наявності у цих екстрактів очікуваної фармакологічної дії. В якості можливих екстрагентів були досліджені вода та спирт етиловий в концентрації від 10% до 96%. Результати досліджень наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вихід екстрактивних речовин, суми окиснюваних фенолів, водорозчинних полісахаридів з трави фіалки при використанні ряду екстрагентів (n=5)

Екстрагент	Екстрактивні речовини	Сума окиснюваних фенолів	Водорозчинні полісахариди
1	2	3	4
Вода очищена	40,21±1,43	5,30±0,30	6,16±0,24
10% спирт етиловий	39,43±1,01	4,25±0,23	4,16±0,21
20% спирт етиловий	39,23±0,93	2,84±0,21	3,17±0,17
30% спирт етиловий	39,02±1,23	2,85±0,22	2,29±0,15
40% спирт етиловий	36,08±1,33	4,66±0,21	1,10±0,09
50% спирт етиловий	33,52±1,15	4,71±0,12	1,00±0,09
60% спирт етиловий	31,42±1,18	3,04±0,21	0,81±0,08
70% спирт етиловий	28,08±1,19	3,12±0,12	-*
80% спирт етиловий	20,52±0,65	1,61±0,11	-
96% спирт етиловий	14,92±0,44	1,01±0,07	-

Примітка.* - не визначали

За даними табл. 1 кращим екстрагентом для трави фіалки за виходом біологічно активних речовин є вода, при цьому вихід екстрактивних речовин, суми окиснюваних фенолів, водорозчинних полісахаридів сягав понад 40%, 5% та 6% відповідно.

Експериментальним шляхом було визначено інші ознаки заявленого способу: співвідношення сировини до екстрагента, час, кратність та температура екстракції. Оптимальні умови здійснення заявленого способу при використанні води, як екстрагента, визначені за збалансованою сукупністю суттєвих ознак, яка забезпечує високий вихід кінцевого продукту і є економічно доцільною. Фрагмент численних варіантів дослідів наведений у таблиці 2.

Згідно даних табл. 2 найбільший вихід екстрактивних речовин та полісахаридів був характерний

для дослідів №16 при сполученні таких факторів, як співвідношення сировини - вода - 1:15, час екстракції - 48год, кратності зливів - 3, та температурі екстракції - 90°C. Також значні виходи екстрактивних речовин та полісахаридів спостерігались в досліді №8, 11, 12, 14 та 15. В досліді №8 екстракцію здійснюють при кімнатній температурі (25°C) протягом 48 годин, що призведе до можливої мікробної контамінації одержаного засобу та зменшенню строків його зберігання. Збільшення кратності зливів та співвідношення сировини - екстрагент призводить до збільшення виходу екстрактивних речовин та полісахаридів, що показано в досліді №14 та 16. З огляду на економічну доцільність більш прийнятними є умови екстракції не 48, а 12год при нагріванні, тобто умови досліді №14.

Таблиця 2

Визначення оптимальних умов екстракції трави фіалки

	Ознаки способу				Вихід, % від абсолютно сухої сировини	
	співвідношення сировина- екстрагент	час настою- вання	кратність зливів	температура	екстрактивних речовин	водорозчинних полісахаридів
1.	1:5	12	1	25	19,67	2,31
2.	1:15	12	1	25	26,15	2,66
3.	1:5	48	1	25	20,96	3,74
4.	1:15	48	1	25	26,48	2,70
5.	1:5	12	3	25	17,55	10,36
6.	1:15	12	3	25	29,24	3,29
7.	1:5	48	3	25	17,37	8,93
8.	1:15	48	3	25	25,86	10,15
9.	1:5	12	1	90	19,45	7,59
10.	1:15	12	1	90	29,56	2,05
11.	1:5	48	1	90	20,71	10,09
12.	1:15	48	1	90	31,66	10,93
13.	1:5	12	3	90	15,62	9,08
14.	1:15	12	3	90	27,67	12,00
15.	1:5	48	3	90	17,63	12,20
16.	1:15	48	3	90	29,23	16,61

Таким чином, оптимальними ознаками заявленого способу можна вважати: загальне співвідношення сировини до екстрагенту 1:15, час екстракції 12 годин, кратність екстракції 3, температура 90°C.

Передбачене корисною моделлю додаткове промивання сировини водою після завершення процесу екстракції забезпечує змивання залишків екстракту з сировини і сприяє підвищенню виходу готового продукту. Співвідношення сировина - екстрагент 1:1,5 у цьому випадку є необхідним і достатнім.

З метою очищення одержаного об'єднаного екстракту від дрібних часточок сировини та зайвих високомолекулярних сполук заявлений спосіб передбачає відстоювання зазначеного охолодженого екстракту протягом 10-12 годин.

Експериментально доведено, що концентрування фільтрату відстоюного екстракту до 1/3 попереднього об'єму сприяє більш продуктивному подальшому упарюванню (скорочується час та енергозатрати) до значення втрати у масі 20-25%, що дозволяє одержати готовий продукт у формі густого екстракту, придатного до зберігання, транспортування без втрати фармакологічної активності.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Траву фіалки, подрібненої до розміру часток 5-7мм, завантажують в екстрактор. Заливають водою очищеною та екстрагують протягом 4год при температурі 90°C. Зливають екстракт у приймач. Сировину екстрагують ще двічі за тих же умов новими порціями екстрагенту при загальному співвідношенні сировина - екстрагент 1:15. Одержані екстракти об'єднують. Сировину в екстракторі промивають 1,5 кратною кількістю екстрагенту для змиву екстракту. Одержаний екстракт охолоджують та відстоюють протягом 10-12год для вида-

лення дрібних часток сировини та високомолекулярних сполук. Потім екстракт відфільтровують від осаду та концентрують переважно за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарату до 1/3 об'єму та упарюють бажано у вакуум-сушильній шафі до значення втрати у масі при висушуванні 20-25%. Вихід кінцевого продукту становить 29-31% від маси повітряно-сухої сировини.

Готовий продукт одержують у вигляді темно-коричневої смолоподібної субстанції зі слабким специфічним запахом. Продукт добре розчинний в гарячій воді, розчинний в воді, нерозчинний в хлороформі, 96% спирті етиловому та ацетоні.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. 2,0кг трави фіалки, подрібненої до розміру часток 5-7мм, завантажували в екстрактор. Заливали 15,5л води очищеної (з урахуванням коефіцієнту поглинання екстрагенту) та екстрагували протягом 4год при температурі 90°C. Зливали екстракт у приймач. Сировину екстрагували ще двічі у тих же умовах новими порціями екстрагенту по 10л. Одержані екстракти об'єднували. Сировину віджимали, одержані витяги додавали у приймач до екстракту. Сировину в екстракторі промивали 3л екстрагенту для змиву екстракту. Одержаний об'єднаний екстракт охолоджували та відстоювали протягом 10-12год для видалення дрібних часток сировини та високомолекулярних сполук. Потім екстракт відфільтровували крізь бельтинг від осаду, концентрували за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарату до 1/3 об'єму та упарювали у вакуум-сушильній шафі до значення втрати у масі при висушуванні 23,51%. Вихід кінцевого продукту становив 30,66%.

Приклад 2. Вивчення противиразкової дії способу у формі густого екстракту з трави фіалки, одержаного за заявленим способом, проводили на

моделі гострого ураження шлунку у щурів, викликаного преднізолоном та спиртом етиловим.

«Спирто-преднізолонову» виразку у досліді викликали у безпородних білих щурів-самців масою 200-250г. Протягом 24 годин тварин утримували на голоді з вільним доступом до води. По закінченні зазначеного терміну щурам внутрішньошлунково вводили преднізолон із розрахунку 20мг/кг та 80% етиловий спирт у дозі 0,6мл/100г маси тіла тварини. Перед тим як ввести преднізолон, його змішували з етанолом.

Препаратом порівняння був обраний альтан [4], отриманий із суплідь вільхи клейкої, що виявляє гастропротекторні, противиразкові властивості та застосовується при виразковій хворобі.

Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково у лікувально-профілактичному режимі: одноразово 1 раз на день, починаючи за 3 дні до моделювання патології, і закінчували у день відворення виразки (через 1 годину після введення спирто-преднізолонової суміші), у дозах густий екстракт трави фіалки - 50мг/кг, альтан - 1мг/кг.

Дослідні тварини були поділені на групи: інтактний контроль, контрольна патологія (неліковані тварини з патологією), тварини з модельною пато-

логією + густий екстракт трави фіалки, тварини з модельною патологією + альтан. У кожену групу брали по 6 тварин.

В якості критерію оцінки ефективності проти-виразкових препаратів використовували величину противиразкової активності (ПВА) у відсотках, яку розраховували на основі наступних даних: відсоток тварин з виразками у групі (T_B), середня площа виразок у групі ($S_{Bсер}$) у балах, виразковий індекс (ВІ). Градацію у балах виразкової поверхні проводили у залежності від сумарної площі виразкових дефектів: 1-2мм² - 1 бал, 3-5мм² - 5 балів, 6-10мм² - 10 балів, понад 10мм² - 15 балів; у випадку загибелі тварини від перфорації шлунка інтенсивність ураження і оцінювали в 15 балів.

Виразковий індекс та противиразкову активність розраховували за формулами:

$$VI = (S_{Bсер} \times T_B) / 100;$$

$$ПВА = 100\% - ((VI_{лік} \times 100\%) / VI_k,$$

де $VI_{лік}$ - ВІ у групі тварин з модельною патологією, яких лікували;

VI_k - ВІ у групі тварин з контрольною патологією (неліковані).

Результати досліду наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

Вивчення противиразкової активності густого екстракту трави фіалки та альтану на моделі гострого виразкового ураження шлунку у щурів, викликаного преднізолоном та спиртом етиловим

Варіанти досліду	Показники		
	$S_{Bсер}$, бали	ВІ	ПВА, %
Інтактний контроль	-	-	-
Контрольна патологія	55,33±7,74	55,33	-
Густий екстракт трави фіалки	27,17±5,32*	27,17	50,90
Альтан	15,00±3,23*	15,00	72,89

Примітка: * - достовірно по відношенню до групи контрольної патології ($P \leq 0,05$).

Аналіз результатів експерименту показав, що всі тварини з групи інтактного контролю за загальним станом були у нормі: добре їли корм, пили воду, були активні, реагували на зовнішні подразники, шерсть була без змін. Слизова оболонка шлунку (СОШ) інтактних тварин також була в нормі: нормального кольору, з нормальною складчастістю, без набряклості і геморагій. При макроскопічному дослідженні СОШ у групі інтактних тварин виразок не знайдено.

У групі контрольної патології загальний стан тварин був незадовільним: спостерігалася відсутність апетиту, зниження рухової активності, слабка реакція на зовнішні подразники, шерсть була најачена.

При макроскопічному розгляді шлунків тварин групи контрольної патології відмічено, що введення спирто-преднізолонової суміші призвело до утворення множинних глибоких уражень, появи набряку, значної гіперемії, крововиливів у СОШ, порушення її складчастості, появи ділянок некрозу. У декількох тварин спостерігалася здуття усього шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Наявність виразкових дефектів, як крапкових, так і масивних,

відзначалася у всіх тварин даної групи, тому кількість тварин з виразками у цій групі склала 100% (слід відмітити, що цей показник був аналогічним у всіх групах) при середній площі виразок 55,33±7,74 бали, а виразковий індекс - 55,33.

Щури з модельною патологією, яких лікували густим екстрактом трави фіалки, а також у групі, лікованій альтаном, за зовнішнім виглядом та поведінкою майже не відрізнялися від тварин з групи інтактного контролю. У цих групах щурів здуття ШКТ не спостерігалася, а також відмічалася значно менша кількість та площа звивань; крововиливів було небагато, до того ж вони були крапковими; зміни кольору та складчастості СОШ у більшості тварин з даних груп не знайдено, а у решти - спостерігалися зміни у вигляді помірної гіперемії або блідості СОШ з незначним порушенням складчастості.

Середня площа виразок у групі, лікованій густим екстрактом трави фіалки, дорівнювала 27,17±5,32 бали. Виразковий індекс при цьому склав 27,17, а противиразкова активність - 50,90%.

Середня площа виразок у групі, лікованій препаратом порівняння - альтаном, дорівнювала

15,00±3,23 бали. Виразковий індекс при цьому склав 15,00, а противираzkова активність - 72,89%.

Отже, результати дослідю свідчать про наявність противираzkової дії у густого екстракту трави фіалки, що знаходиться на рівні дії препарату порівняння альтану, оскільки, незважаючи на кількісну перевагу ПВА альтану, ефективність противираzkової активності досліджуваного засобу та альтану достовірно не відрізняються.

Наведений приклад є доказом об'єктивності твердження про наявність противираzkової активності у густого екстракту трави фіалки.

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання засобу з противираzkовою дією з трави фіалки, який передбачає використання води в якості екстрагента та достатньої вітчизняної сировинної бази. Спосіб є простим, економічним і може бути здійснений на стандартному обладнанні хіміко-фармацевтичних підприємств. Заявлений спосіб забезпечує одержання субстанції з противираzkовою дією без побічних ефектів, нетоксичної, яка

може бути використана як діюча субстанція у лікарських препаратах, виконаних у різних лікарських формах і придатних до тривалого вживання пацієнтами різних вікових груп.

Заявлений спосіб забезпечує одержання очищеного готового продукту з економічно доцільним виходом.

Джерела інформації:

1. Патент 59681 А, Україна, МПК 7 А61К 35/78, заявл. 15.11.2002, опубл. 15.09.2003, Бюл. №9.

2. Патент на винахід 34709, Україна, МПК А61К 36/38 (2009.01), А61К 127/00 (2009.01), А61Р 37/00, заявл. 14.01.2008, опубл. 10.06.2009, Бюл. №11.

3. Современная фитотерапия / Под ред. В. Петкова. - София: Медицина и физкультура, 1988 - с. 245-246.

4. Лекарственные препараты Украины / Под ред. В.П. Черных, И.А. Зупанца. - Х.: Золотые страницы, 2005. - с. 27.