УКРАЇНА

(19) UA (11) 118295 (13) C2

(51) МПК
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 135/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ЕКОНОМІЧНОГО РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **a 2017 01248**

(22) Дата подання заявки: **10.02.2017**

(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **26.12.2018**

(41) Публікація відомостей про заявку: **10.08.2018, Бюл.№ 15**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **26.12.2018, Бюл.№ 24**

(72) Винахідник(и):
Гонтова Тетяна Миколаївна (UA),
Ільїнська Нонна Ігорівна (UA),
Чушенко Валентина Миколаївна (UA),
Осолодченко Тетяна Павлівна (UA)

(73) Власник(и):
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
UA 83509 U, 10.09.2013
UA 104458 C1, 10.02.2014
UA 64075 A, 16.02.2004
UA 63489 U, 10.10.2011
UA 107819 U, 24.04.2016
Гонтова Т. М. та інші, Вивчення гідроксикоричних кислот у траві деяких сортів жоржин / Гонтова Т. М., Ільїнська Н. І., Крюкова Я. С. // Матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії», м. Харків, 12-13 листопада 2015 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2015. – С.83-84.
Study of the component composition of phenolic compounds obtained from Dahlia varieties Ken's Flame herb / T. N. Gontova, N. I. Ilyinska, O. Golembiovska, V. V. Mashtaler // Der Pharma Chemica. - 2016. - Vol. 8, Iss. 18. - P. 455-459.
Ільїнська, Н. І. Отримання та вивчення полісахаридних комплексів з бульб деякіх сортів роду жоржина / Н. І. Ільїнська, Т. М. Гонтова // Аналітична хімія у фармації : матеріали II міжнар. наук.-практ. Інтернет-конф., м. Харків, 17 берез. 2016 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2016. – С. 102–103
Chain length distribution of inulin from dahlia tubers as influenced by the extraction method / Ya. S. Kriukova, A. Jakubiak-Augustyn, N. I. Ilyinska, H. Krotkiewski, T. N. Gontova, O. A. Evtifeyeva, T. Özcelik, A. Matkowski // International Journal of Food Properties. - 2017. - Vol. 23. - P. 1-11.
CN 104983772 A2, 21.10.2015
RU 2352347 C1, 20.04.2009
RU 2314822 C2, 20.01.2008
RU 2155061 C1, 27.08.2000

UA 118295 C2

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЖОРЖИНИ СОРТУ KEN'S FLAME З АНТИМІКРОБНОЮ ДІЄЮ

(57) Реферат:

Винахід належить до способу одержання сухого екстракту антимікробної дії шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини 70 % спиртом етиловим з подальшим об'єднанням витягів, їх відстоюванням, упарюванням та сушінням, де як рослинну сировину використовують

траву жоржини сорту Ken's Flame, екстракцію здійснюють принаймні тричі при співвідношенні сировина: екстрагент 1:8-1:10, а об'єднані витяги піддають очищенню від ліпофільних речовин та полісахаридів.

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до способів одержання сухого екстракту з антимікробною дією, який може бути використаний як субстанція для створення препаратів з антимікробною дією у різних лікарських формах.

Лікарські засоби рослинного походження набувають все більшої популярності у фармацевтичній та медичній практиці, завдяки їх близькій спорідненості до організму людини, меншій кількості побічних реакції та токсичності, ніж у синтетичних аналогів. Тому сьогодні одним із найперспективніших напрямків фармацевтичної науки є пошук та вивчення нових видів лікарських рослин, а також створення на їх основі нових лікарських засобів.

Існують різні способи одержання сухих екстрактів з антимікробною дією.

Відомий спосіб одержання екстракту кореневищ гірчака зміїного [1], який полягає у вичерпній екстракції рослинної сировини чистим ацетоном у апарат Сокслета впродовж 2 год., концентруванні отриманого екстракту шляхом випарювання розчинника на водяній бані до 1/10 об'єму з наступним сушінням при кімнатній температурі під витяжкою.

Суттєвим недоліком цього способу є використання ацетону, який має збудливу та наркотичну дію на центральну нервову систему, викликає гострі й хронічні отруєння, тому робота з ним потребує підвищеної техніки безпеки. Відомий спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії [2] шляхом багаторазової екстракції трави буркуну лікарського (Melilotus officinalis) та/або трави буркуну білого (Melilotus albus) хлороформом при загальному співвідношенні сировина:екстрагент 1:(10-12), при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі протягом 28-32 годин.

До недоліків способу можна віднести використання великих кількостей хлороформу, що є економічно невигідно.

Відомий спосіб одержання ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної з протимікробною та репаративною активністю [3], який полягає у екстракції трави грінделії розчепіреної 50 % етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:9-1:11 з подальшим упарюванням отриманого екстракту до водного залишку у вакуумі при температурі 85-90 °С, 6-8-ми кратною обробкою залишку хлороформом та упарюванням отриманої ліпофільної фракції до видалення хлороформу.

Недоліком наведеного способу є багатостадійність, що ускладнює його здійснення у виробничих умовах, надмірні витрати спирту етилового та хлороформу.

Найближчим до заявленого способу є спосіб одержання сухого екстракту з листя плюща звичайного (Hederahelix L.) [4], який полягає у шестикратному екстрагуванні сухого подрібненого листя плюща звичайного 70 % спиртом етиловим при температурі 90-95 °С і ліофільне висушування екстракту.

Недоліком наведеного способу є багатостадійна екстракція рослинної сировини, що призводить до великої витрати екстрагенту та високої собівартості кінцевого продукту.

Задача винаходу полягає у створенні нового способу одержання сухого екстракту з трави жоржини сорту Ken's Flame, в якому шляхом запропонованої сукупності технологічних прийомів та параметрів досягається максимальне виділення екстракту з вираженою антимікробною активністю.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання сухого екстракту антимікробної дії шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини 70 % спиртом етиловим з подальшим об'єднанням витягів, їх відстоюванням, упарюванням та сушінням, винаходом передбачено, що як рослинну сировину використовують траву жоржини сорту Ken's Flame, екстракцію здійснюють принаймні тричі при співвідношенні сировина:екстрагент 1:8-1:10, а об'єднані витяги піддають очищенню від ліпофільних речовин та полісахаридів.

Заявлений спосіб одержання сухого екстракту передбачає використання як рослинної сировини траву жоржини сорту Ken's Flame. Рослини роду жоржина з успіхом культивуються у всьому світі. Бульби жоржини входять до складу зборів, які застосовуються при лікуванні та профілактиці порушень ліпідного та вуглеводного обмінів. Незважаючи, що дані рослини набули своєї популярності як лікарська сировина, вивченню трави й досі не приділено значної уваги. Літературні дані свідчать, що народна медицина використовує траву цієї рослини як ранозагоювальний та протизапальний засоби. Авторами вперше вивчено антимікробну активність сухого екстракту трави жоржини сорту Ken's Flame.

Всі параметри заявленого способу визначено експериментальним шляхом з урахуванням біологічної активності одержаного екстракту, ефективності, доступності та нешкідливості реактивів, практичного відтворення способу у промислових умовах.

Вибір екстрагента було здійснено експериментальним шляхом, виходячи з кількості одержаних екстрактивних речовин, вартості та екологічної безпечності екстрагента.

Експериментально встановлено, що використання співвідношення сировина:екстрагент менше 1:8 не забезпечує достатню екстракцію БАР, що призводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Якщо співвідношення більше 1:10, то це призводить до ускладнення та подовження технологічного процесу, збільшення використання розчинника та енерговитрат.

Заявлений спосіб здійснюють шляхом трикратної екстракції висушеної та подрібненої трави жоржини сорту Ken's Flame 70 % спиртом етиловим при співвідношенні сировина.-екстрагент 1:8-1:10 протягом 1 години. Одержані витяги об'єднують та відстоюють у холодильнику 1 добу, що дає змогу осадити механічні включення. Потім екстракт упарюють до 1/5 від початкового об'єму та очищують від ліпофільних домішок хлороформом. Після чого проводять висадження полісахаридів 96 % спиртом етиловим. Осад, що утворився відфільтровують, а рідину, що залишилась над осадом сушать під вакуумом до сухого стану.

Одержаний сухий екстракт з трави жоржини сорту Ken's Flame - це порошок темно-коричневого кольору, з трав'янистим запахом та гірким смаком.

Вихід готового продукту складає не менше 8 % від повітряно-сухої сировини.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1. 100 г подрібненої та висушеної до повітряно-сухого стану трави жоржини сорту Ken's Flame заливали 1 л 70 % спиртом етиловим і екстрагували впродовж 1 години. Витяг зливали у приймач. Екстракцію повторювали ще двічі, заливаючи сировину 0,5 л 70 % спирту етилового, після чого отримані витяги об'єднували та відстоювали у холодильнику впродовж однієї доби. Водно-спиртовий екстракт упарювали під вакуумом до практичного повного видалення спирту та очищали від ліпофільних речовин хлороформом. Висадження полісахаридів проводили додаванням 300 мл 96 % спирту етилового. Осад полісахаридів відфільтровували, очищений екстракт сушили у вакуум-випарювальному апараті до сухого стану.

Вихід готового продукту склав 9 % від повітряно-сухої сировини.

Приклад 2. 200 г висушеної та подрібненої сировини трави жоржини сорту Ken's Flame заливали 1 л 600 мл 70 % спиртом етиловим і проводили екстракцію протягом 1 години. Витяг зливали у приймач, екстракцію повторювали ще двічі, використовуючи чистий екстрагент у кількості 800 мл.

Отримані екстракти об'єднували та відстоювали у холодильнику 1 добу. Після цього витяг упарювали до видалення спирту та проводили очистку від ліпофільних домішок хлороформом. Далі проводили очищення екстракту від полісахаридів. Для цього до витягу додавали 450 мл 96 % спирту етилового, осад, що утворювався відфільтровували, а очищений екстракт сушили у вакуум-випарювальному апараті до сухого стану.

Вихід готового продукту склав 10 % від повітряно-сухої сировини.

Приклад 3. Вивчення антимікробної активності сухого екстракту одержаного за заявленим способом проводили методом дифузії в агар [5] в Інституті мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ під керівництвом к. біол. н. Осолодченко Т.П. Відповідно до рекомендацій ВООЗ [6] для оцінки активності препарату використовували референс-штами Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Proteus vulgaris NCTC 4636, Pseudomon asaeruginosa ATCC 27853, Basillus subtilis ATCC 6633, Candida albicans 885/653 ATCC.

Для визначення антимікробної дії сухого екстракту трави жоржини сорту Ken's Flame культури мікроорганізмів вирощували на живильному середовищі агар Мюллера-Хітона (Дагестанський НДІ поживних середовищ). Термін культивування мікроорганізмів складав 24 години. Для аналізу було використано спиртові розчини екстракту. Результати дослідження наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Антимікробна активність сухого екстракту
з трави жоржини сорту Ken's Flame, одержаного за заявленим способом

Мікроорганізми	Зона затримки росту мікроорганізму, мм
S. aureus 25923 ATCC	21,5±0,6
E.coli 25922 ATCC	17,0±0,7
P. vulgaris 4636 NCTC	13,0±0,6
P. aeruginosa 27853 ATCC	17,0±0,8
B. subtilis 6633 ATCC	23,5±0,7
C. albicans 885/653 ATCC	16,0±0,6

Аналіз даних табл. 1 свідчить про те, що діаметри зон затримки росту відносно до S. aureus, E. Coli, P. vulgaris, P. aeruginosa, B. Subtilis, C. albicans становлять 13-23,5 мм, що свідчить про чутливість мікроорганізмів до сухого екстракту з трави жоржини сорту Ken's Flame, одержаного за заявленим способом, який має виражену антимікробну дію.

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання сухого екстракту з антимікробними властивостями з трави жоржини сорту Ken's Flame. Заявлений спосіб простий, економічний, передбачає використання доступних та екологічно безпечних реактивів і може бути здійснений на будь-якому фармацевтичному підприємстві зі стандартним обладнанням. Сухий екстракт, одержаний за заявленим способом, може бути використаний як лікарська субстанція для створення препаратів з антимікробною дією у різних лікарських формах.

Джерела інформації:

1. Патент № 83509, Україна. МПК А61К35/00. Спосіб одержання екстракту кореневищ гірчака зміїного, що має протимікробну активність відносно поліантибіотикорезистентних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів. - № 201304853; заявл. 16.04.2013; опубл. 10.09.2013, бюл. № 17.

2. Патент № 104458, Україна. МПК А61К 36/185 (2006.01), А61К 135/00 (2006.01), А61Р 31/04 (2006.01). Спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії. - № а201112448; заявл. 24.10.2011; опубл. 10.02.2014, бюл. № 3.

3. Патент № 64075 А, Україна. МПК (2006.01) А61К 9/06, А61К 31/02, А61К 36/28, А61К 47/00, А61К 47/10, А61Р 17/02, А61Р 31/00. Спосіб одержання ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної з протимікробною та репаративною активністю, що містить даний ліпофільний екстракт. - № 2002086897; заявл. 21.08.2002; опубл. 16.02.2004, бюл. № 2.

4. Пат. № 63489, Україна МПК А61К35/00. Спосіб одержання сухого екстракту з листя плюща звичайного (Hedera helix L.) з комплексною муколітичною, антимікробною та протизапальною активністю - № 201103137; заявл. 17.03.11; опубл. 10.10.11, Бюл. № 19.

5. Експериментальне вивчення токсичної дії потенціальних лікарських засобів. Методичні 45 рекомендації /Коваленко В.М., Стефанов О.В., Максимов Ю.М., Трахтенберг І.М.// В сб.: Доклінічні дослідження лікарських засобів. Ред. О.В. Стефанов. - К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. - С. 74-97.

6. Методичні вказівки "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007. - Київ 2007.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб одержання сухого екстракту антимікробної дії шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини 70 % спиртом етиловим з подальшим об'єднанням витягів, їх відстоюванням, упарюванням та сушінням, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують траву жоржини сорту Ken's Flame, екстракцію здійснюють принаймні тричі при співвідношенні сировина:екстрагент 1:8-1:10, а об'єднані витяги піддають очищенню від ліпофільних речовин та полісахаридів.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601