



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **99042** (13) **C2**  
(51) МПК

**A61K 36/74** (2006.01)

**A61K 135/00** (2006.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2011 02084</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>22.02.2011</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>10.07.2012</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>12.12.2011, Бюл.№ 23</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.07.2012, Бюл.№ 13</b></p> <p>(72) Винахідник(и): <b>Горяча Ольга Володимирівна (UA), Кашпур Наталія Валеріївна (UA), Ільїна Тетяна Василівна (UA), Комісаренко Андрій Миколайович (UA), Абдулкафарова Ельміра Рамізівна (UA), Грудько Ірина Володимирівна (UA), Очкур Олександр Васильович (UA), Ковальова Алла Михайлівна (UA), Ісакова Тетяна Іванівна (UA)</b></p>	<p>(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,</b> вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002, Україна (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 25670 A, 25.12.1998. UA 31032 A, 15.12.2000. UA 64075 A, 16.02.2004. RU 2283086 C2, 10.09.2006. Ільїна Т.В., Горяча О.В., Ковальова А.М., Комісаренко А.М. Терпеноїди квіток <i>Galium verum</i> L. // Вісник фармації. – 2006. – №4. – Т.56. – С.25-27. Yigit D, Yigit N, Ozgen U. An investigation on the anticandidal activity of some traditional medicinal plants in Turkey // <i>Mycoses</i>. – 2009 Mar; V. 52. – No2. – P.135-140. CN 101933990 A, 05.01.2011, abstract.</p>
---	--

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІПОФІЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ**

**(57) Реферат:**

Спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини органічним розчинником з наступним упарюванням до видалення екстрагенту. Згідно з винаходом як сировину використовують траву підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), екстракцію здійснюють хлороформом при загальному співвідношенні сировина: екстрагент 1:(10-12) до знебарвлення розчинника, при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С з рециркуляцією екстрагенту у замкненому циклі протягом 28-32 годин.

UA 99042 C2



Винахід належить до хіміко-фармацевтичної галузі, а саме - до способів одержання з рослинної сировини біологічно активних речовин (БАР) ліпофільної природи та їх комплексів з антимікробною дією, які можуть бути використані як активні субстанції при створенні лікарських препаратів зазначеної фармакологічної активності у різних лікарських формах.

5 Відомий спосіб одержання ліпофільного екстракту з природної сировини - обніжжя бджолиного [1], шляхом екстракції подрібненої сировини зрідженим газом дихлордифторметаном при тиску 4,5-5,5 кгс/см<sup>2</sup>, що перевищує атмосферний, при співвідношенні сировина - екстрагент 1:5-1:6, температурі 18-25 °С протягом 2,75-3,25 годин з наступним видаленням екстрагенту з екстракту при випарюванні.

10 До недоліків зазначеного способу можна віднести високу вартість та складність технологічного процесу, а також необхідність використання спеціального обладнання для проведення екстракції при високому тиску.

Відомий спосіб одержання ліпофільного екстракту грінделії розчепіреної з протимікробною та репаративною активністю [2]. Зазначений спосіб полягає у екстракції трави грінделії розчепіреної 50 %-им 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-кратною обробкою залишку хлороформом та упарюванням отриманої ліпофільної фракції до видалення хлороформу.

20 Недоліком наведеного способу є багатостадійність, що ускладнює його здійснення у виробничих умовах, надмірні витрати спирту етилового та хлороформу. При використанні як розчинника 50 %-го етанолу окрім ліпофільних сполук у розчин екстрагується комплекс інших біологічно активних речовин, у тому числі фенольні сполуки, глікозиди та ін., що потребує додаткових операцій по виділенню ліпофільних сполук із суміші.

25 Найближчим до заявленого за технологічними прийомами є спосіб одержання ліпофільного комплексу з рослинної сировини [3], що складається з екстракції сировини органічним розчинником при співвідношенні сировина: екстрагент 1:(5-20), вилучення розчинника шляхом упарювання екстракту, змішування отриманого залишку з водою, очистку залишку хлорвмісними похідними вуглеводню з подальшим упарюванням під вакуумом. Як рослинну сировину використовують ромашку аптечну або календулу, або пижму, або звіробій, або золотушник. Як органічний розчинник використовують ацетон або нижчі спирти - спирт метиловий, спирт етиловий, спирт пропіловий, спирт ізопропіловий, спирт бутиловий; як хлорвмісні похідні вуглеводню використовують хлороформ або хлористий метилен, або чотирихлористий вуглець.

30 До недоліків зазначеного способу слід віднести використання великих об'ємів органічних розчинників, що веде до здороження виробництва, та послідовність технологічних стадій, яка унеможливує інтенсифікацію та спрощення процесу отримання цільового продукту.

35 Задачею винаходу є створення способу одержання засобу рослинного походження шляхом екстракції хлороформом трави підмаренника справжнього, в результаті чого одержують ліпофільний комплекс БАР з вираженою антимікробною дією.

40 Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини органічним розчинником з наступним упарюванням та сушінням, згідно з винаходом, як сировину використовують траву підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), екстракцію здійснюють хлороформом до знебарвлення останнього при загальному співвідношенні сировина:екстрагент - 1:10-1:12, при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С з рециркуляцією екстрагенту у замкненому циклі протягом 28-32 годин.

45 Винаходом передбачено, що як рослинна сировина використовується трава підмаренника справжнього. Підмаренник справжній (*Galium verum* L.) - багаторічна трав'яниста рослина родини маренові (*Rubiaceae* Juss.), широко використовується у народній медицині з лікувальною метою [4]. Ліпофільний комплекс рослини представлено біологічно активними речовинами з вираженими антимікробними властивостями - хлорофілами, терпеноїдами, ароматичними сполуками.

Вибір хлороформу як хлорорганічного розчинника обумовлений його здатністю максимально екстрагувати ліпофільні сполуки підмаренника справжнього. У сучасному фітохімічному виробництві хлороформ широко застосовують як знежирюючий агент, але отримувані при 55 цьому ліпофільні фракції не є цільовим продуктом та, найчастіше, у подальше виробництво не включаються.

60 Експериментальним шляхом встановлено, що оптимальним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини і екстрагенту як 1:10-1:12. При цьому, якщо співвідношення менше 1:10, не забезпечується достатня екстракція БАР, що приводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Навпаки, якщо

співвідношення більше 1:12, це веде до ускладнення та подовження технологічного процесу, збільшення використання розчинника та енерговитрат. Екстракція протягом 28-32 годин забезпечує максимальне вилучення ліпофільних сполук з сировини.

5 Згідно з заявленим способом, упарювання проводять до видалення екстрагенту з подальшим отриманням сухого залишку.

Отриманий залишок являє собою темно-зелену порошкоподібну масу із різким характерним запахом.

Заявлений спосіб здійснюють в умовах рециркуляції екстрагента у замкненому циклі, що запобігає виходу хлороформу в оточуюче середовище.

10 Сукупність ознак заявленого способу є новою, невідомою з джерел інформації.

Новий спосіб здійснюють за простою технологією, яку можливо здійснити на стандартному заводському обладнанні, екстракцію проводять до повного вилучення ліпофільного комплексу БАР з сировини. Одержують субстанцію рослинного походження з ефективною антимікробною дією, нетоксичну, придатну до тривалого застосування без звикань та побічної дії. Для здійснення заявленого способу існує достатня вітчизняна сировинна база.

15 Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

1 кг заготовленої у фазу цвітіння і подрібненої трави підмаренника справжнього завантажують у циркуляційний екстрактор, заливають 10 л хлороформу та вичерпно екстрагують при постійно підтримуваній температурі 55 °С протягом 32 годин при загальному співвідношенні сировина: екстрагент 1:10 з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі до знебарвлення екстрагенту. Отриманий екстракт упарюють до видалення парів хлороформу у вакуумі до отримання сухого залишку.

20 Вихід ліпофільної фракції становить 3,09 %.

25 Приклад 2

Антимікробну дію ліпофільного комплексу трави підмаренника справжнього, отриманого за заявленим способом, вивчали у дослідях *in vitro* за відомими методиками [5, 6] методом дифузії в агар та методом серійних розведень. Для оцінки активності ліпофільного комплексу використовували стандартні штами мікроорганізмів, регламентовані ВООЗ для вивчення антимікробної дії препаратів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 885-663. Для визначення антимікробної дії культури мікроорганізмів вирощували на м'ясо-пептонному агарі при  $t=37$  °С. Термін культивування мікроорганізмів складав 24 години. Для кількісної оцінки антимікробної дії ліпофільного комплексу та визначення мінімальної пригнічуючої рiст мікроорганізмів концентрації використовували метод серійних розведень.

35 Ліпофільний комплекс використовували у вигляді 2 % спиртового розчину. Результати проведених досліджень наведені в табл.

Таблиця

Протимікробна активність ліпофільного комплексу підмаренника справжнього, одержаного за заявленим способом

Тест-штами мікроорганізмів	Діаметр зон затримки росту в мм	*МБсК, мкг/мл	**МБцК, мкг/мл
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	30,3±0,4	62,5	125
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12,0±0,1	250	500
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	21,2±0,2	125	250
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	16,1±0,3	250	500
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	20,2±0,3	125	250
<i>C albicans</i> ATCC 885-663	x	>1000	>1000

\*МБсК - мінімальна бактеріостатична концентрація

\*\*МБцК - мінімальна бактеріцидна концентрація

X - зони затримки росту мікроорганізмів не спостерігаються.

40

Аналіз даних таблиці свідчить про те, що діаметри зон затримки росту щодо *S. aureus*, *E. coli* *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* та *B. subtilis* складають 12-30 мм, що вказує на чутливість

мікроорганізмів до ліпофільного екстракту. Отже, ліпофільний комплекс трави підмаренника справжнього має виражену антимікробну дію щодо грам-позитивних та грам-негативних бактерій. Досліджуваний комплекс виявився неактивним лише щодо *S. albicans*.

5 Таким чином, заявлено спосіб одержання ліпофільного комплексу з трави підмаренника справжнього з антимікробною дією. Заявлений спосіб простий, економічний, передбачає використання доступної вітчизняної сировини, є екологічно безпечним і може бути здійснений на будь-якому фармацевтичному підприємстві зі стандартним обладнанням. Ліпофільний комплекс БАР, одержаний заявленим способом, може бути використаний як лікарська субстанція для створення препаратів з антимікробною дією у різних лікарських формах.

10 Джерела інформації:

1. Пат. 25670А Україна, Заявл. 30.12.1997, Опубл. 25.12.1998, Бюл. № 6/1998.
2. Пат. 31032А, Україна, Заявл. 02.07.1998, Опубл. 15.12.2000, Бюл. № 7, 2000 р.
3. Пат. 64075КА, Україна, Заявл. 21.08.2002, Опубл. 16.02.2004, Бюл. № 2, 2004 р.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Carifoliaceae-Plantaginaceae. - Л.: Наука, 1990.-326 с.
- 15 5. Методические рекомендации определения активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций: Метод. реком. / Калиниченко Н. Ф., Волянский Ю. Л., Старобинец З. Г. и соавторы / Харьков.-1991.-16 с.
- 20 6. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. / Волянський Ю. Л., Гриценко І. С., Широбоков В. П. і співавт. - Київ, -2004.-40 с.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

25 Спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини органічним розчинником з наступним упарюванням до видалення екстрагенту і отриманням сухого залишку, який **відрізняється** тим, що як сировину використовують траву підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), екстракцію здійснюють хлороформом при загальному співвідношенні сировина : екстрагент 1:(10-12) до знебарвлення розчинника, при постійно підтримуваній температурі 55-60 °С, з рециркуляцією екстрагенту у замкнутому циклі протягом 28-32 годин.

30

---

Комп'ютерна верстка Л.Литвиненко

---

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