



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113930** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)

A61K 36/73 (2006.01)

A61P 29/00

A61P 7/04 (2006.01)

A61K 131/00 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 07287**

(22) Дата подання заявки: **05.07.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **27.02.2017**

(46) Публікація відомостей **27.02.2017, Бюл.№ 4**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Гладух Євген Володимирович (UA),
Кисличенко Вікторія Сергіївна (UA),
Ленчик Лариса Володимирівна (UA),
Січкарь Антоніна Анатолівна (UA),
Шаповал Ольга Миколаївна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)**

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ, МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧОЮ ТА КРОВОСПИННОЮ ДІЄЮ З ПЛОДІВ ЧЕРЕМХИ ЗВЧАЙНОЇ

(57) Реферат:

Спосіб одержання засобу з протизапальною, мембраностабілізуючою та кровоспинною дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини спиртом етиловим з подальшим об'єднанням відфільтрованих екстрактів, очисткою, упарюванням і сушінням відфільтрованого осаду. Як рослинну сировину використовують плоди черемхи звичайної, екстракцію здійснюють 30 % розчином спирту етилового тричі при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10-1:12, а об'єднанні екстракти упарюють до 1/20-1/22 початкового об'єму.

UA 113930 U

Корисна модель належить до фармації та медицини, а саме до способів одержання біологічно активних речовин з природної сировини, зокрема до способів одержання лікарських засобів протизапальної, мембраностабілізуючої та кровоспинної дії з плодів черемхи звичайної.

Відомий спосіб одержання засобу з мембраностабілізуючою та протизапальною дією [1] шляхом багаторазової екстракції трави бораго лікарського 41-45 % спиртом етиловим при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:15 протягом 12 годин з подальшим об'єднанням одержаних екстрактів, відстоюванням екстрактів протягом 12 годин, фільтрацією та упарюванням. До недоліків способу можна віднести підвищену витрату спирту етилового. Крім того, одержаний засіб не має кровоспинної дії.

Відомий спосіб одержання засобу з протизапальною та антимікробною активністю [2] шляхом трикратної екстракції листя ільма граблистого 40-60 % спиртом етиловим протягом двох годин при загальному співвідношенні сировина:екстрагент 1:15-1:20 при температурі кипіння екстрагента, з подальшим відстоюванням екстракту, фільтрацією та концентруванням до густого стану. До недоліків способу можна віднести досить високу температуру процесу екстракції та високу концентрацію спирту етилового, що вимагає витрати матеріальних ресурсів. Крім того, одержаний засіб не має кровоспинної дії.

Відомий спосіб засобу з кровоспинною дією [3] шляхом екстракції стовпчиків з приймочками кукурудзи звичайної 40 % спиртом етиловим при співвідношенні сировина:екстрагент 1:1 протягом 2 годин при температурі 80-90 °С, з наступною фільтрацією і сушінням відокремленої надосадової рідини. До недоліків способу можна віднести високу температуру процесу екстракції, що може негативно вплинути на біологічно активні речовини, високу концентрацію спирту етилового, що вимагає матеріальних ресурсів. Крім того, одержаний засіб не має протизапальної та мембраностабілізуючої дії.

Задачею корисної моделі є створення способу одержання густого екстракту з рослинної сировини, що має виражену протизапальну, мембраностабілізуючу та помірну кровоспинну дію за спрощеним технологічним процесом з високим виходом цільового продукту.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з протизапальною, мембраностабілізуючою та кровоспинною дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини спиртом етиловим з подальшим об'єднанням відфільтрованих екстрактів, очисткою, упарюванням і сушінням відфільтрованого осаду, згідно з корисною моделлю, як рослинну сировину використовують плоди черемхи звичайної, екстракцію здійснюють 30 % розчином спирту етилового тричі при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10-1:12, а об'єднанні екстракти, відфільтровують та упарюють до 1/20-1/22 початкового об'єму.

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

Черемха звичайна (*Padus avium* Mill) - рід листопадних дерев і кущів родини розоцвітих (*Rosaceae*) підроду сливових (*Prunoideae*). В Україні росте майже по всій території, переважно в лісовій зоні, проникає по долинах річок в степову зону. Також, черемху культивують, адже її плоди мають приємний солодкувато-терпкий присмак. Їх використовують для виготовлення пирогів та кондитерських виробів [4]. Плоди черемхи мають не тільки харчове, а й лікарське значення. У науковій медицині її плоди використовують як в'язучий протизапальний, фітонцидний засіб. [5].

Авторами вперше було досліджено протизапальну, мембраностабілізуючу та кровоспинну дію плодів черемхи звичайної, не відому з джерел інформації.

Експериментальним шляхом було встановлено, що ефективним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини до екстрагенту 1:10-1:12. При цьому, якщо співвідношення менше 1:10, то не забезпечується достатня екстракція БАР, що приводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту, а співвідношення більше 1:12 призводить до ускладнення та подовження технологічного процесу, часу упарювання та підвищення енерговитрат.

Очистку екстракту в процесі здійснення заявленого способу проводять шляхом відстоювання в холодильнику протягом 4-х годин, що забезпечує осадження механічних включень та гідрофобних речовин. Відстоювання в холодильнику також запобігає прокисанню екстракту.

Згідно з заявленим способом об'єднаний екстракт упарюють до 1/20-1/22 первинного об'єму. Концентрування саме до такого об'єму є раціональним, оскільки екстракт має оптимальну в'язкість та текучість.

В результаті здійснення заявленого способу одержують густий екстракт у вигляді в'язкої маси від темно-червоного до темно-бордового кольору, зі специфічним запахом. Колір залежить від якості сировини та умов сушіння. Отриманий готовий екстракт містить не менше ніж: 3 % поліфенольних сполук, визначення проводили спектрофотометрично за методикою ДФУ 2 видання (2.8.14); та не менше 1 % гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту [6]. Вихід готового продукту складає 15-20 %.

Заявлений спосіб здійснюється наступним чином. Висушені цілі плоди черемхи піддають трикратній екстракції 30 % розчином спирту етилового при загальному співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10-1:12 та тривалості екстракцій: перша - 24 години, друга та третя по 12 годин при кімнатній температурі. Одержані спиртові витяги об'єднують, відстоюють у холодильнику 4 години, відфільтровують, упарюють до 1/20-1/22 початкового об'єму при температурі 85 °C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690 мм рт. ст. Вихід готового продукту становить 15-20 %.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. 1 кг цільної сировини плодів черемхи звичайної заливають 1 л 30 % розчину етанолу та настоюють протягом 24 годин при кімнатній температурі, потім екстрагують методом мацерації двічі з новими порціями екстрагенту. Одержані спиртові витяги об'єднують та відстоюють у холодильнику 4 години, відфільтровують та упарюють при температурі 85 °C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690 мм рт. ст. до густого екстракту. Вихід готового продукту - 15-20 %.

Приклад 2. Протизапальну дію густого екстракту плодів черемхи звичайної одержаного за заявленим способом, вивчали на моделі ексудативного карагенінового набряку стопи [7] білих щурів масою 180-200 г. Густий екстракт плодів черемхи звичайної вводили у вигляді розчину у дозах 10, 20 та 50 мг/кг. Препарат порівняння диклофенак натрію вводили у розчині у дозі 8 мг/кг. Протизапальну дію досліджуваного екстракту та препарату порівняння визначали за здатністю зменшувати набряки у дослідних тварин. Результати дослідження наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення протизапальної дії густого екстракту плодів черемхи звичайної

Назва речовини	Добова доза, мг/кг	Протизапальна дія, % (середня за 5 годин)
Густий екстракт плодів черемхи звичайної	10,0	19,24±2,31
	20,0	35,00±4,12
	50,0	22,20±4,02
Диклофенак натрію	8,00*	54,70±3,19

* - ЕД₅₀ диклофенаку натрію, яка розрахована нами в інших дослідженнях та підтверджується даними літератури [7].

Аналіз результатів дослідження свідчать про те, що густий екстракт плодів черемхи, одержаний за заявленим способом, проявляє виражену протизапальну дію в добовій дозі 20 мг/кг (35,00±4,12).

Приклад 2. Мембраностабілізуючу дію густого екстракту плодів черемхи звичайної одержаного за заявленим способом вивчали в умовах спонтанного гемолізу еритроцитів щурів за Jager F.C. [8, 9]. Мембраностабілізуючу дію досліджуваних засобів оцінювали за зміною кількості гемолізованих еритроцитів у тварин дослідних груп у порівнянні з щурами групи інтактного контролю.

Результати дослідження наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Впливу густого екстракту плодів черемхи звичайної на стан мембран клітин в умовах моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Jager F.C.

Умови досліджу	Ступінь гемолізу еритроцитів, %	Мембраностабілізувальна активність, %
Інтактний контроль (ІК)	7,21±0,86	-
Густий екстракт черемхи звичайної, плодів 10 мг/кг	5,22±0,52	27,60

Таблиця 2

Впливу густого екстракту плодів черемхи звичайної на стан мембран клітин в умовах моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Jager F.C.

Умови досліджу	Ступінь гемолізу еритроцитів, %	Мембраностабілізуювальна активність, %
Густий екстракт черемхи звичайної, плодів 20 мг/кг	3,84±0,41*	46,74
Густий екстракт черемхи звичайної, плодів 50 мг/кг	4,79±0,48*	33,56

Примітка:* - відхилення показника достовірно відносно групи ІК, $P \leq 0,05$.

Аналіз результатів дослідження свідчать про те, що профілактичне введення густого екстракту плодів черемхи звичайної в дозах 10, 20 і 50 мг/кг привело до стабілізації мембран еритроцитів, та в дозах 20,0 та 50,0 мг/кг до достовірного зниження інтенсивності гемолізу в порівнянні з тваринами ІК, що свідчить про їх виражену мембраностабілізуючу та цитопротекторну дію. Так, екстракт черемхи в дозі 10,0 мг/кг знижує ступінь гемолізу еритроцитів відносно ІК недостовірно у 1,4 разу і його мембраностабілізуюча дія становить 27,60 %. В дозах 20,0 та 50,0 мг/кг екстракт черемхи сприяє достовірному відносно ІК зниженню ступеня гемолізу еритроцитів у 1,9 та 1,5 разу відповідно і проявляє виражену мембраностабілізуючу дію в цих дозах: 46,74 % та 33,56 % відповідно.

Приклад 3. Кровоспинна дія густого екстракту плодів черемхи звичайної, одержаного за заявленим способом.

Вплив густого екстракту плодів черемхи звичайної на згортання крові у щурів масою 180-200 г вивчали при профілактичному введенні екстракту протягом 7 днів [7]. По закінченні введення проводили визначення часу згортання першої краплі крові після надрізу кінчика хвоста щурів. Ступінь кровоспинної дії визначали за здатністю густого екстракту плодів черемхи звичайної зменшувати час згортання крові у щурів в порівнянні з цим показником у тварин групи інтактного контролю (ІК) та виражали у відсотках (%).

Результати дослідження наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Вплив густого екстракту плодів черемхи звичайної на згортання крові

Експериментальна група	Згортання крові, сек.	Кровоспинна дія, %
Інтактний контроль (ІК)	182±23	-
Густий екстракт плодів черемхи звичайної, 10 мг/кг	165±21	9,30
Густий екстракт плодів черемхи звичайної, 20 мг/кг	149±12*	18,10
Густий екстракт плодів черемхи звичайної, 50 мг/кг	157±11	13,70

* - Відхилення показника достовірно по відношенню до групи інтактного контролю ($P \leq 0,05$).

Аналіз результатів таблиці 3 свідчить про те, що густий екстракт плодів черемхи звичайної проявляє слабку достовірно значущу кровоспинну дію 18,1 % у добовій дозі 20 мг/кг.

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання засобу з протизапальною, мембраностабілізуючою та кровоспинною дією з плодів черемхи звичайної.

Заявлений спосіб простий і може бути здійснений на стандартному обладнанні в промислових умовах. Спосіб передбачає використання доступної сировини і забезпечує промислово доцільний вихід готового продукту, який може бути використаний як лікарська субстанція у складі лікувально-профілактичних засобів різних лікарських форм.

Джерела інформації:

1. Пат. 56055 Україна, МПК А61К 36/00, А61Р 29/00. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з мембраностабілізуючою та протизапальною дією; заявл. 07.06.2012; опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24.

2. Пат. 56261 Україна, МПК А61К 36/30 (2006.01), А61К 127/00, А61К 135/00, А61Р 29/00. Спосіб одержання засобу з мембраностабілізуючою та протизапальною дією; заявл. 07.06.2010; опубл. 10.01.2011, Бюл. № 1.

3. Пат. 103781 Україна, МПК А61К 36/899 (2006.01), А61Р 7/00. Спосіб одержання біологічно активної субстанції рослинного походження з місцевою та системною кровоспинною дією; заявл. 20.07.2015; опубл. 25.12.2015, Бюл. № 24.

4. Фармацевтична енциклопедія / Голова ред. ради та автор передмови В.П. Черних. - 2-ге вид., переробл. і доповн. - К.: "МОРІОН" 2010. - 1632 с.

5. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. академіка АН УРСР М.Гродзінського. - К.: Голов. ред. укр. рад. Енциклопедії ім. М.П.Бажана, 1991. - 344 с.

6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". - 2-е вид. - Харків: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2015. - Т. 1. - 1128 с.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) // За редакцією: член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - С. 292-306.

8. Алексеева О.М., Фаткуллина Л.Д., Голощанов А.Н. Действие биологически активных веществ на структуру биологических мембран / В кн.: Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.; Одиннадцатый съезд Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, 17-20 июня 2014 г., Минск, Беларусь: сб. ст. в 2 ч. Ч. 1 / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. - Минск.: Изд. центр БГУ, 2014. - С. 191-193.

9. Jager F.C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro // Nutr. et Diets. - 1968. - Vol. 10, № 3. - P. 215-223.

25

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання засобу з протизапальною, мембраностабілізуючою та кровоспинною дією шляхом багаторазової екстракції рослинної сировини спиртом етиловим з подальшим об'єднанням відфільтрованих екстрактів, очисткою, упарюванням і сушінням відфільтрованого осаду, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують плоди черемхи звичайної, екстракцію здійснюють 30 % розчином спирту етилового тричі при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10-1:12, а об'єднані екстракти упарюють до 1/20-1/22 початкового об'єму.

35

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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