



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87817** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61K 36/28 (2006.01)
A61P 13/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 08594	(72) Винахідник(и): Марчишин Світлана Михайлівна (UA), Гарник Мирослава Сергіївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.07.2013	(73) Власник(и): ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.02.2014	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.02.2014, Бюл.№ 4	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ РОСЛИННОЇ СУБСТАНЦІЇ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА СЕЧОГІННОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

Спосіб одержання рослинної субстанції з протизапальною та сечогінною активністю, зокрема трави розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.) включає технологічний етап водного екстрагування. Екстракцію спочатку проводять 70 % етиловим спиртом.

UA 87817 U

Корисна модель належить до фармації, зокрема способів одержання фармакологічно активної субстанції з лікарської сировини, а саме з трави розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.), комплексу фенольних сполук (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин) із вираженою протизапальною і сечогінною активністю для використання їх як діючих речовин лікарських засобів протизапальної і сечогінної дії.

Відомий спосіб одержання рослинної субстанції з протизапальною активністю, зокрема із пирію повзучого, що включає технологічний етап екстрагування [Патент 7213 U. Україна, МПК А61К 35/78. Спосіб отримання фармакологічно активної субстанції з рослинної сировини].

Недоліком відомого способу є недостатній рівень технологічності, що впливає із обмеження його лише станом водного екстрагування. В силу цього, розчинні в спирті компоненти не потрапляють в екстракт. Наведене вище обумовлює недостатній спектр фармакологічної активності.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробки способу одержання рослинної субстанції з протизапальною та сечогінною активністю шляхом спиртово-водного екстрагування з рослинної сировини - трави розхідника звичайного біологічно активних речовин, який забезпечить повне екстрагування діючих речовин та високу фармакологічну активність, отриманої субстанції.

При вирішенні технічної задачі були взяті до уваги результати попередніх фітохімічних досліджень, які показали, що трава розхідника звичайного містить біологічно активні речовини: флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини, органічні кислоти, ефірні олії, які характеризуються протизапальними та сечогінними властивостями, а отриманий сухий екстракт трави розхідника звичайного (ЕРЗ) у вигляді сухої субстанції є перспективним для використання протизапальним і сечогінним засобом.

Виходячи з наведеного вище, одержання фармакологічно активної субстанції із трави розхідника звичайного, проводять екстракцією біологічно активних речовин 70 % етиловим спиртом. Одержаний спиртовий екстракт відфільтровують крізь паперовий фільтр під вакуумом і згущують до густого стану в ротаційно-вакуумному випарювачі, потім проводять екстрагування киплячою водою, водний витяг згущують у роторно-вакуумному випарювачі до густого екстракту, згущені спиртовий і водний витяги об'єднують та висушують у роторно-вакуумному випарювачі до сухого порошку.

Спосіб здійснюють наступним чином. Повітряно-суху сировину (траву розхідника звичайного) подрібнюють до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 5 мм і заливають 70 % спиртом етиловим до дзеркала. Сировину екстрагують протягом 24 год. при кімнатній температурі. Далі сировину відфільтровують крізь вакуумний фільтр. Отриманий фільтрат упарюють на вакуумно-ротаційному випарювачі при температурі 60-70 °С до густого екстракту. Сировину заливають гарячою водою (не окропом) у співвідношенні 1:10 і екстрагують на водяній бані протягом 2 год. Сировину відфільтровують крізь вакуумний фільтр і повторюють екстракцію ще двічі по 30-40 хв. Водні екстракти об'єднують і упарюють до густого. Густі спиртовий і водний екстракти об'єднують і висушують до сухого стану під вакуумом.

Приклад 1.

100 г повітряно-сухої трави розхідника звичайного подрібнювали до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 5 мм та заливали 70 % спиртом етиловим до дзеркала. Сировину екстрагували протягом 24 год. при кімнатній температурі. Далі сировину відфільтрували через вакуумний фільтр. Отриманий фільтрат випарювали на вакуумно-ротаційному випарювачі при температурі 60-70 °С до густого екстракту.

Потім сировину заливали гарячою водою (не окропом) у співвідношенні 1:10 і екстрагували на водяній бані протягом 2 год. Сировину відфільтрували з допомогою вакуумного фільтру і повторили екстракцію ще двічі по 30-40 хв., після чого водні витяги об'єднали та упарили до густого екстракту. Густі спиртовий та водний екстракти змішали та висушили під вакуумом до сухого стану. Вихід отриманого сухого екстракту трави розхідника звичайного становив 22,66 %.

Сухий екстракт трави розхідника - це кристалічний порошок темно-коричневого кольору із зеленуватим відтінком, специфічного запаху, розчинний у холодній воді, легко розчинний у гарячій воді, погано розчинний у 40 % етиловому спирті, краще - у 96 % спирті.

Приклад 2.

Дослідження протизапальної активності сухого екстракту трави розхідника звичайного проводили на 56 мишах, масою 22-25 г, по 7 тварин у кожній групі, на моделі карагенінового набряку кінцівки мишей, яку відтворювали субплантарним введенням 0,05 мл 1 % розчину карагеніну в праву задню кінцівку тварини. На 3-й годині (піку розвитку) набряку тварин виводили з досліду дислокацією шийних хребців та порівнювали масу здорової та набряклої

кінцівок після їх екзартикуляції в тазостегнових суглобах. Протизапальну активність сполук розраховували за відповідними формулами, порівняно до контрольних тварин:

$$A = 100\% - \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{(m_{1k} - m_{2k})}$$

де m_1 - маса набряклої кінцівки у досліджуваній групі тварин, г;

5 m_2 - маса здорової кінцівки у досліджуваній групі тварин, г;

m_{1k} - маса набряклої кінцівки у контрольній групі тварин, г;

m_{2k} - маса здорової кінцівки у контрольній групі тварин, г.

10 Досліджувані сполуки та препарати порівняння вводили внутрішньошлунково за 1 годину до ін'єкції карагеніну. Групі контролю вводили еквівалентну кількість фізіологічного розчину натрію хлориду. Досліджуваний екстракт вводили в декількох дозах (25, 50, 75 та 100 мг/кг). Референс-препарати рослинного походження, такі як силібінін та кверцетин досліджували в дозах 100 мг/кг. Диклофенак натрію досліджували в його ефективній дозі 10 мг/кг. Статистичну обробку результатів виконували з допомогою Microsoft Excel XP. Порівняння отриманих величин проводили з використанням t-критерію Ст'юдента. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

15 Результати досліджень представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Протизапальна дія сухого екстракту розхідника звичайного та препаратів порівняння на моделі карагенінового набряку у мишей ($M \pm m$, $n=7$)

№	Препарат	Доза, мг/кг per os	Маса інтактною лапки миші (мг)	Маса набряклою лапки миші (мг)	Приріст маси (%)	Анти- ексудативна активність, %
1	Карагенін		914,3±26,1	1450±83,8	158,6±6,90	0
2	Екстракт розхідника	25	1031,4±36,9	1381,4±23,5	133,9±4,25*	34,7
3	Екстракт розхідника	50	1064,3±32,2	1330,0±23,5	124,9±3,86*	50,4
4	Екстракт розхідника	75	1071,0±21,4	1342±34,3	125,3±2,21*	49,3
5	Екстракт розхідника	100	1090,0±53,0	1270,0±54,8	116,5±1,47*	66,4
6	Диклофенак- натрій	10	1058,6±47,5	1180,0±49,8	111,5±1,43*	77,3
7	Силібінін	100	1012,9±32,1	1240,7±26,5	122,9±3,49*	57,5
8	Кверцетин	100	1130,0±36,1	1305,7±37,0	115,5±0,87*	67,2

Примітки: * - відмінності вірогідні відносно групи контролю ($p < 0,05$)

20 Відомо, що антиексудативна активність речовини на моделі карагенінового набряку свідчить про її вплив на кінінову систему, гістамін та простагландини. Наші дослідження показали, що найбільший ступінь протинабрякової активності на моделі карагенінового набряку у мишей виявився при введенні тваринам сухого екстракту розхідника в дозі 100 мг/кг. За антифлогогенною дією цей рослинний препарат в дозі 100 мг/кг перевершував силібінін, практично відповідав кверцетину, проте поступався диклофенаку.

Приклад 3.

25 Дослідження сечогінної активності сухого екстракту трави розхідника звичайного проводили на 28 щурах-самцях масою 250-280 г по 7 тварин у кожній групі шляхом визначення спонтанного діурезу. Для вивчення діуретичної дії сухого екстракту трави розхідника звичайного піддослідні тварини поміщали у спеціальні камери, які суттєво не обмежували їх активність, забезпечували вільний доступ до води та їжі, а дно камери було сіткою, до якої прикріпили лійку із мірним циліндром. Після 24-годинної адаптації у такій камері щурам внутрішньошлунково вводили досліджувані сполуки. Через 24 години проводили вимірювання кількості сечі та перераховували цей показник на 100 г щура. Екстракт розхідника та уролесан вводили в дозі

30

100 мг/кг, а гідрохлортіазид - в дозі 25 мг/кг. Контрольні тварини отримували еквівалентні кількості розчинника - фізіологічного розчину натрію хлориду.

Результати показали (табл. 2), що сухий екстракт розхідника в дозі 100 мг/кг, яка була найбільш ефективною в попередньому досліді, децю збільшував спонтанний діурез у щурів (на 121,9 %), порівняно з контрольною групою, проте це збільшення не сягало статистично вірогідних значень. Препарат порівняння уролесан виявився більш ефективним: зростання діурезу при його використанні становило 137,0 %, що було більше вірогідно, ніж в контролі, проте обидва рослинні препарати поступались за сечогінною дією гідрохлортіазиду, який збільшував спонтанний діурез щурів в 2,2 рази.

10

Таблиця 2

Діуретична активність сухого екстракту розхідника звичайного та препаратів порівняння у мишей ($M \pm m$, $n=7$)

№	Групи	Доза, мг/кг per os	Добовий діурез, мл	Спонтанний діурез, мл/100 г	Збільшення діурезу, порівняно до контролю, %
1	Контроль	-	6,1±0,44	2,3±0,15	100 %
2	Екстракт розхідника	100	7,3±0,78	2,8±0,33	121,9 %
3	Уролесан	100	8,3±0,41	3,2±0,17*	137,0 %
4	Гідрохлортіазид	25	12,9±0,35	5,0±0,20*	215,0 %

Примітки: * - відмінності вірогідні відносно групи контролю ($p < 0,05$)

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує отримання біологічно активних речовин з сухої сировини - трави розхідника звичайного - у вигляді сухого екстракту із вираженою протизапальною і сечогінною активністю і може бути використаний у промисловому виробництві фітопрепаратів, як засобу з протизапальною та сечогінною дією.

15

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання рослинної субстанції з протизапальною та сечогінною активністю, зокрема трави розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.), який включає технологічний етап водного екстрагування, який **відрізняється** тим, що екстракцію спочатку проводять 70 % етиловим спиртом.

20

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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