



(51) МПК  
**A61K 36/73** (2006.01)  
**B01D 11/02** (2006.01)  
**A61P 13/00** (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010121395/15, 26.05.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 26.05.2010

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.05.2010

(45) Опубликовано: 10.11.2011 Бюл. № 31

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2342945 C1, 10.01.2009. Доклад: Репейничек аптечный (репешок). Перечень данных [он-лайн] 28.06.2006 [Найдено 2011.02.10.] - найдено из Интернет: URL: <http://www.bestreferat.ru/referat-71861.html>. CN 101284066 A, 15.10.2008.

Адрес для переписки:

357532, Ставропольский край, г. Пятигорск,  
 пр. Калинина, 11, фармацевтическая  
 академия, патентное подразделение

(72) Автор(ы):

**Мелик-Гусейнов Валерий  
 Владимирович (RU),  
 Добриева Заира Усмановна (RU),  
 Реккандт Сергей Александрович (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Государственное образовательное  
 учреждение высшего профессионального  
 образования "Пятигорская государственная  
 фармацевтическая академия Федерального  
 агентства по здравоохранению и  
 социальному развитию" (RU)**

### (54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СРЕДСТВА ИЗ РЕПЕЙНИЧКА АПТЕЧНОГО, ОБЛАДАЮЩЕГО ДИУРЕТИЧЕСКИМ, ПРОТИВОМИКРОБНЫМ, АНТИОКСИДАНТНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, в частности к способу получения средства, обладающему диуретическим, антибактериальным и антиоксидантным действием из растительного сырья. Способ получения средства, обладающего диуретическим, антибактериальным и антиоксидантным действием, в котором измельченную траву репейника аптечного, собранную в фазе

цветения, заливают водой, настаивают на кипящей водяной бане при определенных условиях, выдерживают, фильтруют, доводят водой до первоначального объема и вторично настаивают на кипящей водяной бане, охлаждают, доводят до первоначального объема, упаривают до получения сухого остатка. Средство, полученное заявленным способом, обладает повышенной активностью. 3 табл.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.  
*A61K 36/73* (2006.01)  
*B01D 11/02* (2006.01)  
*A61P 13/00* (2006.01)

## (12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2010121395/15, 26.05.2010

(24) Effective date for property rights:  
26.05.2010

Priority:

(22) Date of filing: 26.05.2010

(45) Date of publication: 10.11.2011 Bull. 31

Mail address:

357532, Stavropol'skij kraj, g. Pjatigorsk, pr.  
Kalinina, 11, farmatsevticheskaja akademija,  
patentnoe podrazdelenie

(72) Inventor(s):

Melik-Gusejnov Valerij Vladimirovich (RU),  
Dobrieva Zaira Usmanovna (RU),  
Rekkandt Sergej Aleksandrovich (RU)

(73) Proprietor(s):

Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie  
vysshego professional'nogo obrazovanija  
"Pjatigorskaja gosudarstvennaja  
farmatsevticheskaja akademija Federal'nogo  
agentstva po zdravookhraneniu i sotsial'nomu  
razvitiju" (RU)

## (54) METHOD OF OBTAINING MEDICATION FROM AGRIMONIA EUPATOR, POSSESSING DIURETIC, ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT ACTION

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical industry, in particular to method of obtaining medication, which has diuretic, antimicrobial and antioxidant action from vegetable raw material. Method of obtaining medication, possessing diuretic, antibacterial and antioxidant action, in which milled grass of agrimonia eupator,

collected in flowering phase, is poured with water, drawn on boiling water bath at defined conditions, kept, filtered, brought with water to initial volume and secondary drawn on boiling water bath, cooled, brought to initial volume, evaporated until dry residue is obtained.

EFFECT: medication, obtained by claimed method, has increased activity.

3 tbl, 2 ex

Изобретение относится к фармацевтической промышленности и касается способов получения лекарственного средства из растительного сырья. Одной из актуальных проблем медицинской науки и практического здравоохранения является профилактика и лечение заболеваний мочевыводящих путей, которые по распространённости занимают второе место после ОРЗ в России. Течение таких заболеваний часто имеет хронический характер и требует длительного применения лекарственных препаратов. Социальная значимость этой проблемы обусловлена широким распространением и тяжестью заболеваний. В связи с этим, поиск и разработка новых эффективных и безопасных лекарственных средств и субстанций из растительного сырья, обладающих малой токсичностью, является актуальной задачей.

Известен способ получения отвара толокнянки обыкновенной, применяющегося в качестве мочегонного средства (ГФ XI, вып.2, С.147-148).

Известен способ получения средства, обладающего диуретической активностью, характеризующийся тем, что измельченные до 5 мм корневища с корнями сабельника болотного экстрагируют при температуре 55-65°C 40-45%-ным этиловым спиртом при соотношении сырья и экстрагента 1:(10-15) трехкратно по 2,5 ч, далее извлечения объединяют, фильтруют, упаривают, очищают сепарированием и высушивают в вакуумной сушилке с последующим измельчением, при этом конечный продукт содержит не менее 35% суммы полифенольных соединений в пересчете на (+)-катехин (Патент RU №2318531).

Известен способ получения средства, обладающего диуретической и противовоспалительной активностью, включающий экстракцию растительного сырья - листьев земляники садовой, измельченного от 1,0 мм до 3,0 мм, методом дробной мацерации водой очищенной в соотношении сырье-экстрагент 1:10, в реакторе из нержавеющей стали с ложным дном вместимостью 100 л, снабженным якорной мешалкой, паровой рубашкой и гильзой для термометра, при времени настаивания 90 мин (трехкратное настаивание по 30 мин); объединение водных извлечений, фильтрацию, сепарирование, упаривание в циркуляционном вакуум-выпарном аппарате и высушивание на распылительной сушилке (патент RU №2342945).

Технической задачей предлагаемого изобретения является увеличение специфической активности и расширения спектра действия предлагаемого средства из травы репейника аптечного.

Поставленная задача достигается способом получения средства из репейника аптечного, который заключается в следующем:

Измельченную траву репейника аптечного, собранную в фазе цветения, просеивают через сито с диаметром отверстий 5-7 мм, и измельченное лекарственное растительное сырье заливают водой комнатной температуры, взятой с учетом коэффициента водопоглощения, в соответствующей емкости и настаивают на кипящей водяной бане при частом помешивании при соотношении сырье-экстрагент 1:(5-8) в течение 15 мин с добавлением твина 80 в количестве 0,3%. После чего выдерживают 6-8 часов, фильтруют и доводят водой до первоначального объема и вторично настаивают на кипящей водяной бане 15 мин, охлаждают, доводят до первоначального объема, упаривают до получения сухого остатка.

Пример конкретного выполнения №1.

100 г измельченной травы репейника аптечного просеивают через сито с диаметром отверстий 5-7 мм и заливают водой при соотношении сырье-экстрагент 1:5 и с учетом коэффициента водопоглощения 650 мл воды, с добавлением 1,95 мл твина 80,

настаивают на кипящей водяной бане в течение 15 мин при частом перемешивании.

Снимают, выдерживают 6-8 часов, фильтруют и доводят до первоначального объема, затем вторично настаивают на кипящей водяной бане 15 мин, охлаждают, доводят до первоначального объема и упаривают до получения сухого остатка.

5 Пример конкретного выполнения №2

200 г измельченной травы репейника аптечного просеивают через сито с диаметром отверстий 5-7 мм и заливают 1560 мл воды при соотношении (1:6) с коэффициентом водопоглощения 1,3, с добавлением 4,68 мл твина 80, настаивают на кипящей водяной бане в течение 15 мин при частом перемешивании.

Снимают, выдерживают 6-8 часов, фильтруют и доводят до первоначального объема, затем вторично настаивают на кипящей водяной бане 15 мин, охлаждают, доводят до первоначального объема и упаривают до получения сухого остатка.

15 После проведения цианидовой реакции извлечение приобрело оранжево-красное окрашивание с 5% раствором алюминия хлоридом, имело желто-зеленую флуоресценцию в УФ свете при длине волны 356 нм.

Анализ на содержание флавоноидов

Качественное обнаружение

20 К 0,5 мл раствора субстанции (раствор А), полученного для количественного определения, прибавляют 1 мл 5%-ного спиртового раствора алюминия хлорида; появляется желтое окрашивание.

Ультрафиолетовый спектр раствора Б, приготовленного для количественного определения, в области от 380 до 450 нм имеет максимум поглощения при длине волны 405±2 нм (см. чертеж).

Количественное определение флавоноидов

30 Около 0,15 г (точная навеска) сухого экстракта помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл воды очищенной (70°C), доводят водой до метки и перемешивают (раствор А).

2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл 5%-ного спиртового раствора алюминия хлорида, 1 мл 3%-ной уксусной кислоты и доводят 70%-ным спиртом до метки (раствор Б).

35 Измеряют оптическую плотность раствора Б через 30 минут с помощью спектрофотометра при длине волны 405 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А и 1 мл 3%-ной уксусной кислоты, доведенных до метки 70%-ным спиртом в мерной колбе вместимостью 25 мл.

40 Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл 0,05%-ного раствора рутина, приготовленного аналогично испытуемому раствору.

45 В качестве раствора сравнения при этом используют 1 мл 0,05%-ного раствора рутина и 1 мл 3%-ной уксусной кислоты, доведенных до метки 70%-ным спиртом в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в субстанции в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times m_0 \times 50 \times 25 \times 1 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 2 \times 100 \times 25 \times (100 - W)} = \frac{D \times m_0 \times 25 \times 1 \times 100}{D_0 \times m \times (100 - W)} ;$$

где D - оптическая плотность испытуемого раствора;

D<sub>0</sub> - оптическая плотность раствора рабочего стандартного образца рутина;

m<sub>0</sub> - точная масса рутина, взятого для приготовления раствора рабочего

стандартного образца, г;

m - точная масса препарата, г;

W - потеря в массе при высушивании субстанции, %.

Найдено  $5,62 \pm 0,13\%$ .

5 В качестве оптимального экстрагента мы выбрали воду, так как в нее лучше переходят окисляемые вещества, кислота аскорбиновая и другие водорастворимые компоненты (гликозиды флавоноидов, полисахариды, микроэлементы, аминокислоты).

10 Определение фармакологической активности предлагаемого средства проводилось на белых беспородных крысах-самцах средней массой 170 г. Экстракт вводили однократно подкожно в дозе 20,0 мг/кг массы, а контрольным животным - физиологический раствор в соответствующем объеме (1,0 мл) предварительно, голодавшим до этого в течение 6 часов животным, давали через зонд 5% водную  
15 нагрузку. Крыс помещали в камеры с мочеприемниками. Мочу собирали в градуированные пробирки в течение 5 часов. Результаты эксперимента статистически обработаны и представлены в таблице.

В контрольной группе максимум интенсивности диуреза приходился на первые два часа опыта. В дальнейшем он резко снижался и конечный объем мочи за весь срок  
20 наблюдения составлял 78% всей водной нагрузки (8,5 мл). В экспериментальной группе диурез был выше во все сроки наблюдения, а конечный объем мочи 12,9 мл почти в два раза превышал величину контрольного показателя.

В контрольной группе максимум интенсивности диуреза приходился на первые два часа. В дальнейшем он резко снижался и конечный объем мочи за весь срок  
25 наблюдения составил 78% всей водной нагрузки (8,5 мл).

В экспериментальной группе диурез был выше во все сроки наблюдения, а конечный объем мочи почти в два раза превышал величину контрольного показателя. По сравнению с прототипом объем мочи предлагаемого средства увеличивался.  
30 (Табл.1)

Антиоксидантную активность определяли следующим образом:

В склянку с притертой пробкой объемом 200 мл вносили реакционную смесь следующего состава: 2 мл 1% раствора Твина 80; 0,2 мл 1 мМ раствора сульфата  
35 железа; 0,2 мл 10 мМ раствора аскорбиновой кислоты и 0,2 мл 1% раствора изучаемого объекта с конечным содержанием суммы веществ в пробе - 3 мг.

Смесь тщательно перемешивали, герметично закрывали крышкой и ставили в термостат при 40°C на 48 часов до максимального накопления продукта пероксидации - малонового диальдегината в инкубационной смеси. Затем  
40 реакционную смесь встряхивали и добавляли 1 мл 40% раствора ТХУ, смесь встряхивали вновь и выдерживали в течение 0,5 часа. После этого инкубат переносили в пробирки и центрифугировали 10 мин при 5000 об/мин. Брали 2 мл центрифугата, добавляли 2 мл 0,25% раствора кислоты тиобарбитуровой, встряхивали и выдерживали при 100°C 15 мин, затем охлаждали и фотометрировали окрашенный в  
45 розовый цвет комплекс при 532 нм против контрольной пробы. В контрольных пробах вместо суммы веществ добавляли 0,2 мл воды.

Полученные данные при n=12 в каждом опыте обрабатывали статистически. Антиоксидантную активность в экспериментальных пробах оценивали по убыли  
50 МДА в процентах от контроля.

Результаты приведены в таблице №2

Противомикробное действие средства в жидкой питательной среде МПБ методом серийных разведений с последующим высевом на твердые селективные среды.

Проявление противомикробной активности считают при полном отсутствии роста бактерий. Бактерицидная нагрузка составляла 250000 микробных тел в 1 мл.

Полное подавление роста золотистого стафилококка, синегнойной палочки и протей наблюдаются у средства в чистом виде (таблица №3).

Острую токсичность суммы веществ исследовали на белых крысах-самцах линии Вистар со средней массой 170 г.

Водный раствор субстанции вводили животным внутривентриально в дозах 500, 1000, 1500, 30000 и 60000 мг/кг по одной дозе в группе из 8 особей. За весь срок наблюдения у них отмечалось изменение в поведении, потребление корма и воды, реакции на различные раздражители.

Мышечный тонус и координация движений сохранены в полном объеме. Состояние волосяного, кожного покрова слизистых находилось в пределах нормы. Частота и глубина дыхания не изменялась.

Из-за отсутствия гибели животных при максимально высокой дозе введения исследуемой субстанции сумма веществ из водного отвара травы репейника аптечного относится к категории токсичности VI - относительно безвредных веществ.

Таким образом, предлагаемый способ получения по сравнению с известным позволяет получить препарат с увеличенной диуретической активностью и расширенным спектром действия

Таблица №1

Влияние суммы веществ из репейника аптечного на диурез у крыс.

Исследуемое вещество, группы крыс	Количество мочи за 1 час (в мл)	Количество мочи за 2 часа (в мл)	Количество мочи за 3 часа	Количество мочи за 4 часа (в мл)	Количество мочи за 5 часов (в мл)	Общее количество мочи за 5 часов (в мл)
контроль	2,6±0,5	2,0±0,3	0,9±0,2	0,6±0,07	0,5±0,04	6,6±0,2
Сумма веществ репейника аптечного (20 мг/кг)	4,8±0,3	4,1±0,2	1,9±0,1	1,3±0,2	0,8±0,05	12,9±0,17
Прототип (20 мг/кг)	2,9±0,1	3,0±0,03	0,8±0,05	0,75±0,04	0,6±0,1	8,05±0,2

Таблица №2

Влияние суммы веществ из травы репейника аптечного и эмоксипина на процесс пероксидации in vitro

Исследуемые объекты	Показатель экстинкции М±м	% подавления пероксидации к контролю
Контроль	0,36±0,004	100%
Эмоксипин (3 мг/проба)	0,082±0,003	77,2%
Сумма веществ из репейника аптечного (3 мг/проба)	0,070±0,002	80,8%
P<0,05 во всех опытах к контролю		

Таблица №3

Противомикробные свойства отвара из репейника аптечного.

Соотношение сырья и экстрагента в отваре	Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa	Proteus vulgaris
Отвар 1:5	С	С	С
Отвар 1:6	С	С	С
Отвар 1:7	С	С	С
Отвар 1:8	С	К	К
С - стерильно			
К - колония			

Формула изобретения

Способ получения средства, обладающего диуретическим, антибактериальным и антиоксидантным действием, характеризующийся тем, что измельченную траву репейника аптечного, собранную в фазе цветения, заливают водой, настаивают на кипящей водяной бане при частом помешивании при соотношении сырье-экстрагент 1:  
5 (5-8) в течение 15 мин с добавлением твина 80 в количестве 0,3%, выдерживают 6-8 ч, фильтруют, доводят водой до первоначального объема и вторично настаивают на кипящей водяной бане 15 мин, охлаждают, доводят до первоначального объема, упаривают до получения сухого остатка.

10

15

20

25

30

35

40

45

50