



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 040 265** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **A 61 K 35/78**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 5065600/14, 13.10.1992

(46) Дата публикации: 25.07.1995

(56) Ссылки: Авторское свидетельство СССР N 997684, кл. А 61К 35/78, 1983.

(71) Заявитель:

Институт химии растительных веществ АН
Республики Узбекистан (UZ)

(72) Изобретатель: Хомова Татьяна

Викторовна[UZ],
Гусакова Светлана
Дмитриевна[UZ], Глушенкова Анна
Ивановна[UZ], Хушбакова Зайнаб
Абдурахмановна[UZ], Джахангиров Фархад
Набиевич[UZ], Садиков Алимджан
Заирович[UZ], Арипов Хамидулла
Нигматович[UZ], Сагдуллаев Шамансур
Шахсаидович[UZ]

(73) Патентообладатель:

Институт химии растительных веществ АН
Республики Узбекистан (UZ)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ЭКСТРАКТА

(57) Реферат:

Изобретение относится к
химико-фармацевтической промышленности
и касается способа получения биологически
активного экстракта из растительного сырья.
Сущность изобретения: заключается в
экстракции жидких отходов производства
аллапинина из корневищ аконита северного
трехкратно хлороформом, отделении
хлороформных извлечений, промывки водой

до нейтральной среды, упаривании и далее
упаренный концентрат, либо смоляной отход
производства аллапинина из надземной части
аконита белоустого обрабатывают 96%-ным
этанолом и полученный экстракт отстаивают,
надосадочную жидкость отделяют
декантацией и фильтруют. Технический
результат заключается в упрощении
процесса. 5 табл.

RU 2 040 265 C1

RU 2 040 265 C1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 040 265** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁶ **A 61 K 35/78**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 5065600/14, 13.10.1992

(46) Date of publication: 25.07.1995

(71) Applicant:
Institut khimii rastitel'nykh veshchestv AN
Respubliki Uzbekistan (UZ)

(72) Inventor: Khomova Tat'jana Viktorovna[UZ],
Gusakova Svetlana Dmitrievna[UZ], Glushenkova
Anna Ivanovna[UZ], Khushbaktova Zajnab
Abdurakhmanovna[UZ], Dzhakhangirov Farkhad
Nabievich[UZ], Sadikov Alimdzhon
Zairovich[UZ], Aripov Khamidulla
Nigmatovich[UZ], Sagdullaev Shamansur
Shakhsaidovich[UZ]

(73) Proprietor:
Institut khimii rastitel'nykh veshchestv AN
Respubliki Uzbekistan (UZ)

(54) **METHOD FOR PREPARING OF BIOLOGICALLY ACTIVE EXTRACT**

(57) Abstract:

FIELD: chemical and pharmaceutical industry. SUBSTANCE: liquid wastes of production of allapinine is extracted three times with the help of chloroform, chloroform being separated and washed to neutral reaction. Said wastes are prepared during production of allapinine of aconite

rhizome. The process is followed by evaporation. Thus prepared boiled down concentrate or resin wastes of preparing allapinine of above ground part of aconite are treated by 98 ethanol. Thus prepared extract is allowed to stand, supernatant liquid being decanted and filtered. EFFECT: simplifies the method. 5 tbl

Изобретение относится к медицине, а именно к химико-фармацевтической промышленности и касается способа получения биологически активных экстрактов.

Для придания косметическим препаратом и средствам бытовой химии лечебно-профилактических свойств в их состав вводят разнообразные биологически активные добавки: витамины, белковые гидролизаты, липиды, настои и экстракты лекарственных трав. Среди них особое внимание в последние годы привлекает группа липидов с высокой биологической активностью: фосфо- и гликолипиды, которые способны стимулировать иммунитет, облегчать транспорт питательных веществ через кожу, восстанавливать клеточные мембраны и нормализовывать нарушенные обменные процессы в коже, а также обладают свойствами природных эмульгаторов (Степанов А.Е. Краснопольский Ю.М. Швец В.И. Физиологически активные липиды. М. Наука, 1991, с. 135; Заявка РСТ N 86/00015, кл. А 61 К 7/48, 35/12, 35/685, 1986).

Известны способы получения биоактивных веществ из растительного сырья путем экстракции гексаном (Авт. св. СССР N 11784449, кл. А 61 К 35/78, 1985), этиловым спиртом различной концентрации (Войцеховская А.Л. Вольфензон И.И. Косметика сегодня. М. Химия, 1988, с. 175; Патент СССР N 1375112, кл. А 61 К 7/00, 1988), либо водой, CO₂ и маслами (Фридман Р.А. Технология косметики. М. Пищевая промышленность, 1964, с. 326), при этом степень извлечения фосфо- и гликолипидов определяется в основном типом экстрагента.

Наиболее близким к предлагаемому является способ выделения биологически активных веществ из растительного сырья, выбранного нами за прототип.

Этот способ осуществляется путем обработки растительного сырья смесью двух растворителей на первой стадии и затем добавления к смеси норкового жира и дальнейшей экстракции при определенных режимах, отстаивания, фильтрации и обработки этиловым спиртом.

Недостатками известного способа являются трудоемкость и сложность технологического процесса, применение больших количеств дорогостоящих и дефицитных экстрагентов низкоплавкой фракции норкового жира и хладона-113. Кроме того, использование фторированных и хлорированных углеводородов в настоящее время резко сокращается ввиду их экологической вредности. Известным способом из растительного сырья удается извлечь витамины А, Е, С, В₁, В₂, Р, эфирное масло, азулен, смолы, бальзамы и камеди, а биологически активные фосфо- и гликолипиды не извлекаются.

Цель изобретения упрощение и удешевление способа и получение экстракта биологически активных веществ, обогащенных фосфо- и гликолипидами.

Цель достигается тем, что в качестве исходного сырья используют жидкие отходы производства лекарственного препарата антиаритмического действия "аллапинин" из корневищ растений рода *Aconitum*, либо смолообразные отходы производства этого препарата из надземной части растений данного рода (Авт. св. СССР N 1196004, кл. А

61 К 35/78, 1985).

По предлагаемому способу к получаемым при переработке корневищ жидким отходам, представляющим собой смесь водно-щелочного и хлороформенного маточников, добавляют при первой экстракции хлороформ до соотношения объемов водная щелочь-хлороформ 1:(0,3-0,5), вторую и третью экстракции проводят при таком же соотношении водной щелочи и хлороформа, экстрагируя каждый раз по 24 ч при 20-25°C с периодическим перемешиванием. Хлороформные извлечения отделяют, промывают водой до нейтральной среды, упаривают, а остаток после удаления хлороформа, либо смоляной отход производства аллапинина из надземной части обрабатывают 96%-ным этанолом их разбавлением до концентрации сухого остатка 2-2,5 мас. и очистку проводят отстаиванием полученного экстракта в течение 12-15 ч при 20-25°C и надсадочную жидкость отделяют декантацией и фильтруют.

Пример 1. К жидким отходам производства аллапинина из корневищ аконита северного смеси водно-щелочного маточника, получаемого при осаждении алкалоидов, и хлороформенного маточника, получаемого при промывке осадка алкалоидов, в количестве 5 л добавляют 0,5 л хлороформа. Экстракцию проводят 24 ч при 20-25°C с периодическим перемешиванием. Вторую и третью экстракции проводят, добавляя по 1,5 л хлороформа, при тех же условиях, что и первую. Хлороформный слой отделяют, промывают водой до нейтральной среды и полностью упаривают в вакуум-выпарном аппарате при температуре не выше 50°C. Остаток (36 г) разбавляют 700 мл 96%-ного этанола при перемешивании, получая 730 мл экстракта с концентрацией сухого остатка 2,5 мас. Для удаления веществ, малорастворимых в этаноле, полученный экстракт отстаивают в течение 12 ч при 20-25°C, затем жидкую фазу отделяют декантацией и фильтруют. Получают препаративную форму экстракта аконита (целевой продукт) в количестве 710 мл, содержащего 51,0% фосфо- и гликолипидов от массы сухого остатка.

Пример 2. Смолообразные отходы производства аллапинина из надземной части аконита белоустого в количестве 0,5 кг разбавляют 96%-ным этанолом (9,5 л) с перемешиванием, получая концентрацию сухого остатка 2,0 мас. Полученные 990 мл экстракта отстаивают в течение 15 ч при комнатной температуре с последующим отделением декантацией жидкой фазы, которую фильтруют и получают препаративную форму биологически активного экстракта в количестве 970 мл, содержащего 58,0% фосфо- и гликолипидов от массы сухого остатка.

Преимуществами предлагаемого способа по сравнению с прототипом является следующее:

упрощение процесса, т.е. в известном способе осуществляется 11 операций, в предлагаемом 6 при переработке корневищ и 3 при переработке надземной части, в известном способе 2-я стадия процесса экстракции проводится в течение 24 ч при 50-60°C, в предлагаемом весь процесс

ведется при температуре окружающей среды, за исключением кратковременного (30-40 мин) повышения температуры до 50 °C при отгоне хлороформа;

удешевление процесса за счет исключения больших количеств дорогостоящих и дефицитных экстрагентов низкоплавкой фракции норкового жира и хладона-113;

утилизация отходов и, следовательно, более комплексное использование растительной биомассы и экологическое улучшение технологии получения аллапинита, в известном способе в качестве исходного сырья используют надземную часть лекарственных растений, в предлагаемом водно-щелочной и хлороформенный маточники, а также смолу отходы производства, получаемого при выделении аллапинина из корневищ аконита северного и из надземной части аконита белоустого;

предлагаемый способ позволяет получить комплекс биологически активных веществ, присутствующих в растениях рода Аконит, представляющих собой концентрат биоактивных липидных и липофильных компонентов, обогащенных фосфо- и гликолипидами (табл. 1).

Состав жирных кислот двух экстрактов, полученных предлагаемым способом и приведенный в табл. 2, свидетельствуют об их обогащенности полиеновыми жирными кислотами (витамином F) и о наличии других высокоактивных жирных кислот, например олеиновой и пальмитолеиновой. Известно, что эти кислоты способствуют образованию гранул при регенерационных процессах. Витамин F при наружном применении положительно влияет на углеводный обмен, усиливает липолитическую активность.

Таким образом, экстракты из растений рода Аконит, полученные предлагаемым способом, благодаря высокому содержанию биологически активных липидных и липорастворимых соединений, благотворно действующих на кожу, могут успешно применяться в составе рецептов косметики и бытовой химии. Исследования активности полученного экстракта, проведенные на животных в лаборатории фармакологии ИХРВ АН РУз, показали, что экстракт аконита белоустого оказывает благоприятное воздействие на обменные процессы кожи, а именно увеличивает содержание в ней гликогена, снижает уровень молочной кислоты, способствует увеличению окислительно-восстановительного потенциала кожи и приводит к отрицательным величинам избыточного лактата, повышает эластичность кожи вследствие снижения содержания холестерина, триглицеридов и повышения фосфолипидов, оказывает противовоспалительное действие. Положительное влияние липидного концентрата аконита белоустого (ЛКАБ) на метаболические процессы кожи и наличие противовоспалительного эффекта иллюстрируются следующими примерами.

Пример 1. В данной серии экспериментов изучалось противовоспалительное действие ЛКАБ на модели формалинового и овальбуминового воспаления. Формалиновый отек воспроизводили на белых мышах массой 18-20 г путем внутримышечного введения в

правое бедро 0,1 мл 0,5%-ного раствора формалина. Оценку противовоспалительной активности проводили через сутки после введения формалина по разнице между воспаленной и невоспаленной лапками. ЛКАБ вводили в дозах 25 и 50 мг/кг орально за 4 ч до и через 5 и 18 ч после инъекции формалина. Овальбуминовый отек воспроизводили на белых крысах массой 180-200 г путем субплантарного введения овальбумина (0,1 мл) в правую заднюю лапку. ЛКАБ вводили в вышеуказанных дозах в течение трех дней до инъекции овальбумина и через 30 мин после инъекции овальбумина. Оценку противовоспалительной активности проводили через 2 ч после введения овальбумина по разнице объема между воспаленной и невоспаленной лапками. Полученные результаты на белых мышах показали, что прирост массы воспаленной лапки по отношению к невоспаленной в контроле составлял 28% тогда как введение ЛКАБ в дозе 25 мг/кг способствовало угнетению отека на 16,1% а в дозе 50 мг/кг на 23,6% (табл. 3).

Из данных этого эксперимента видно, что ЛКАБ обладает противовоспалительной активностью.

Во второй серии экспериментов изучения противовоспалительной активности ЛКАБ было установлено, что трехдневное введение его выражено препятствовало развитию воспаления и отека. Так, если в контрольной группе объем лапок после введения овальбумина увеличивался на 0,65 см³, то предварительное введение ЛКАБ в дозе 25 мг/кг препятствовало возрастанию отека на 20% а в дозе 50 мг/кг на 38% (табл. 4).

Таким образом, профилактически-лечебное введение ЛКАБ препятствует развитию формалинового и овальбуминового воспаления и отека.

Пример 2. В данной серии экспериментов изучалось влияние ЛКАБ на компоненты углеводного и липидного обменов в коже подопытных животных.

Исследования проводились на 96 белых крысах массой 180-220 г. Исследуемые экстракты наносили в течение 30 дней на предварительно эпилированный участок кожи (2,5x2,5 см²) один раз в сутки в 0,5%-ной и 5%-ной концентрациях в растительном масле. Экспериментальные животные были разделены на 3 группы. Первая группа животных контрольная, вторая обрабатывалась ЛКАБ в концентрации 0,5%-ного раствора, третья группа 5%-ным раствором ЛКАБ. Животных декапитировали через сутки после последней аппликации. Лоскут кожи каждого животного эпилировали, тщательно очищали и замораживали в жидком азоте. В гомогенате кожи определяли содержание гликогена, молочной кислоты (МК), пировиноградной кислоты (ПВК) по методам Фридмана, Гутмана, Лоу, Райскина, значения окислительно-восстановительного потенциала системы

молочная-пировиноградная кислота (ОВП МК) и избыточного лактата получили ПВК

расчетным путем, содержание общих липидов, холестерина, фосфолипидов и триглицеридов определяли общепринятыми методами.

Полученные результаты представлены в

табл. 5, из данных которой видно, что однократное нанесение на кожу в течение 30 дней исследуемого ЛКАБ способствует положительным сдвигам как в углеводном, так и в липидном обменах кожи. Из данных табл. 5 видно, что увеличение гликогена в коже под действием 0,5% -ного раствора ЛКАБ составляет 28% а под действием 5%-ного раствора 30% т.е. большого содержания гликогена не наблюдалось при повышении концентрации испытуемого раствора. При этом наблюдается увеличение концентрации ПВК (под действием 0,5%-ного раствора на 9% а под действием 5%-ного раствора на 16%) и уменьшение содержания МК в коже (под действием 0,5 и 5%-ных растворов и на 9-13% соответственно). Расчет отношений МК и ПВК показывает, что при использовании исследуемых концентраций ЛКАБ коэффициент соотношения уменьшается на 19,6-26,9% Снижение содержания МК, увеличение уровня ПВК способствует увеличению окислительно-восстановительного потенциала кожи на 2,5-4,7 мВ и приводит к отрицательным величинам избыточного лактата. Со стороны липидного обмена при применении 5%-ных концентраций ЛКАБ наблюдается увеличение общих липидов на 12% Содержание же холестерина и триглицеридов при этом уменьшается на 12 и 30% соответственно, а уровень фосфолипидов увеличивается на 27% Увеличение уровня фосфолипидов и уменьшение холестерина в коже влечет за собой снижение коэффициента соотношения холестерина к фосфолипидам на 23% что способствует улучшению эластичности кожи. Таким образом, липидный концентрат аконита белоустого по выявленным фармакологическим свойствам оказывает благоприятное воздействие на обменные

процессы кожи.

Исследования токсиколого-гигиенических свойств экстракта аконита белоустого, проведенные на животных в лаборатории токсикологии ИХРВ АНРУз, показали, что он не токсичен, не обладает раздражающим, аллергизирующим и

фотосенсибилизирующим действием.

Параметры острой токсичности экстракта аконита белоустого для белых мышей составили: ДЛ₁₆ 10000 мг/кг, ДЛ₅₀ 14375 мг/кг, ДЛ₈₄ 18875 мг/кг, для белых крыс и кроликов дозы 10000 мг/кг и 20000 мг/кг веса животных не вызывали гибели.

Формула изобретения:

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ЭКСТРАКТА путем обработки растительного сырья органическим растворителем и последующей очистки, отличающийся тем, что в качестве растительного сырья используют жидкие либо смолообразные отходы производства аллапинина из растений рода *Aconitum*, перед обработкой органическим растворителем жидкие отходы, смесь водно-щелочного и хлороформенного маточников при производстве аллапинина из корневищ аконита северного экстрагируют трехкратно хлороформом при соотношении сырья и растворителя 1 0,3 0,5 в течение 24 ч, при 20 25°C с периодическим перемешиванием, хлороформенные извлечения отделяют, промывают водой до нейтральной среды, упаривают, а остаток после удаления хлороформа либо смоляной отход производства аллапинина из надземной части аконита белоустого обрабатывают 96%-ным этанолом их разбавлением до концентрации сухого остатка 2 2,5 мас. и очистку проводят отстаиванием полученного экстракта в течение 12 15 ч при 20 25°C, надосадочную жидкость отделяют декантацией и фильтруют.

Таблица 1

Состав экстрактов аконита северного (I) и аконита белоустого (II), % от массы сухого остатка

Липиды	Состав экстрактов	
	I	II
Углеводороды	49,0	0,6
Эфиры стеролов+эфиры тритерпенолов		7,2
Этиловые эфиры жирных кислот		8,2
Свободные жирные кислоты+тритерпенолы		20,0
Стероиды		6,0
Хлорофиллы	—	
Ксантофиллы	—	
Гликолипиды	51,0	58,0
Фосфолипиды		

Таблица 2

Состав жирных кислот экстрактов аконита северного (I) и аконита белоустого (II), % от массы кислот

Кислота	Состав	
	I	II
8:0	0,2	сл
10:0	0,1	сл
12:0	0,8	0,1
13:0	0,3	сл
X	0,6	0,3
14:0	0,8	0,4
15:0	1,4	0,3
16:0	22,0	18,8
16:1	сл	2,8
16:2	сл	0,6
17:0+16:3	17,0	сл
18:0	2,0	7,5
18:1	4,0	29,9
18:2	21,1	36,7
18:3	27,9	2,6
20:0	сл	сл
22:0	сл	сл
Витамин F (18:2+18:3)	49,0	39,3

Таблица 3

Влияние липидного концентрата аконита белоустого на формалиновый отек у мышей (n = 8-12)

Условие эксперимента	Прирост массы воспаленных лапок по отношению к невоспаленным, %	% угнетения	P
Контроль	28±2,4	—	—
ЛКАБ 25 мг/кг	11,3±2,8	16,7	0,001
ЛКАБ 50 мг/кг	4,4±0,6	23,6	0,001

Таблица 4

Влияние липидного концентрата аконита белоустого на овальбуминовый отек у крыс (n = 8-12)

Условие эксперимента	Исходный объем лапки, см ³	Объем лапки после введения овальбумина, см ³	Прирост объема лапок, см ³	Эффект, в %
Контроль	1,07	1,72	0,65	—
ЛКАБ 25 мг/кг	1,12	1,64	0,52	20
ЛКАБ 50 мг/кг	1,11	1,51	0,40	38

Таблица 5

Влияние липидного концентрата аконита белоустого на некоторые компоненты углеводного и липидного обменов кожи экспериментальных животных (M ± m; n = 8-12)

Условия эксперимента	Гликоген, мг %	Пировиноградная кислота, мкмоль/г ткани	Молочная кислота, мкмоль/г ткани	ОВП, мВ
Контроль	261±18	0,210±0,007	4,45±0,21	- 244,7
ЛКАБ, 0,5 %	334±17,6*	0,23±0,015	4,05±0,18	- 242,2
Контроль	282±21	0,243±0,02	4,92±0,27	- 244,1
ЛКАБ, 5 %	322±19	0,29±0,018	4,28±0,31	- 239,4

Продолжение табл. 5

Условия эксперимента	Избыточный лактат	Общие липиды, мг/г	Холестерин, мг %	Триглицерин, мг %	Фосфолипиды, мг %
Контроль	—	—	—	—	—
ЛКАБ, 0,5 %	- 0,824	—	—	—	—
Контроль	—	29,7±1,7	18,2±1,8	5,4±0,092	110±6,4
ЛКАБ, 5 %	- 1,56	33,2±2,6	15,9±1,5	3,78±0,043*	140±5,3*

* Статистически достоверные различия между контролем и опытными группами.