



(51) МПК  
*A61K 36/61* (2006.01)  
*B01D 11/02* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014139368/15, 29.09.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 29.09.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.09.2014

(45) Опубликовано: 27.12.2015 Бюл. № 36

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2320360 C1, 27.03.2008. DORSAF BEN HASSINE et all. Chemical Composition and in Vitro Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Eucalyptus gillii Essential Oil and Extracts //Molecules 2012, 17 (18), 9540-9558. BEN HASSINE D et all. Chemical composition and in vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of (см. прод.)

Адрес для переписки:

420066, г. Казань, ул. Бондаренко, 33-58, Хазиев Рамиль Шамилович

(72) Автор(ы):

Хазиев Рамиль Шамилович (RU),  
 Мусина Линара Табрисовна (RU),  
 Макарова Алёна Сергеевна (RU),  
 Крашенинников Анатолий Евгеньевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Хазиев Рамиль Шамилович (RU),  
 Мусина Линара Табрисовна (RU),  
 Макарова Алёна Сергеевна (RU),  
 Крашенинников Анатолий Евгеньевич (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ЭВКАЛИПТА ПРУТОВИДНОГО

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к способу получения антибактериального препарата. Способ получения антибактериального препарата путем экстракции листьев эвкалипта прутовидного петролейным эфиром с температурой кипения 40-

70°С, объединяют экстракты, упаривают, высушивают и сухой остаток растворяют в 95% этиловом спирте, при определенных условиях. Средство, полученное вышеописанным способом, обладает выраженным антибактериальным действием. 2 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

*Eucalyptus gillii* essential oil and extracts // Molecules. 2012 Aug 9;17(8):9540-58. doi: 10.3390/molecules17089540. EP 2778177 A1, 17.09.2014.

RU 2 572 231 C1

RU 2 572 231 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

*A61K 36/61* (2006.01)*B01D 11/02* (2006.01)*A61P 31/04* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2014139368/15, 29.09.2014**(24) Effective date for property rights:  
**29.09.2014**

Priority:

(22) Date of filing: **29.09.2014**(45) Date of publication: **27.12.2015** Bull. № **36**

Mail address:

**420066, g. Kazan', ul. Bondarenko, 33-58, Khaziev  
Ramil' Shamilevich**

(72) Inventor(s):

**Khaziev Ramil' Shamilevich (RU),  
Musina Linara Tabrisovna (RU),  
Makarova Alena Sergeevna (RU),  
Krasheninnikov Anatolij Evgen'evich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Khaziev Ramil' Shamilevich (RU),  
Musina Linara Tabrisovna (RU),  
Makarova Alena Sergeevna (RU),  
Krasheninnikov Anatolij Evgen'evich (RU)****(54) METHOD FOR PRODUCING ANTIBACTERIAL PREPARATION OF MANNA GUM LEAVES**

(57) Abstract:

FIELD: pharmacology.

SUBSTANCE: method for producing an antibacterial preparation by extracting manna gum leaves in petroleum ether with a boiling point of 40-70°C; the extracts are combined, boiled down, dried;

the dry residue is dissolved in 95% ethanol in the certain environment.

EFFECT: pronounced antibacterial action.

2 tbl, 1 ex

RU 2 572 231 C1

RU 2 572 231 C1

Изобретение относится к области медицины, касается получения лекарственного препарата растительного происхождения, обладающего антибактериальной активностью.

5 Известен способ получения антибактериального препарата «Хлорофиллипта» (раствора спиртового 1%) из листьев эвкалипта прутовидного, описанный в авторском свидетельстве СССР №801341, дата приоритета 14.04.1979. Данное авторское  
свидетельство имеет статус ДСП, недоступно в платной базе ФИПС. Частичное описание  
данного изобретения приведено в описании к патенту на изобретение №2320360 (способ  
получения «Галенофиллипта»).

10 1% Спиртовой раствор «Хлорофиллипта» получают по авторскому свидетельству СССР №801341 путем экстракции листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L.) 96% этанолом и последующей обработкой полученного концентрированного  
экстракта солью двухвалентной меди, а именно 4% раствором сернокислой меди, с  
последующим извлечением целевого продукта - суммы гидрофобных компонентов, в  
15 т.ч. медных аналогов хлорофилла, бензолом. Экстрагирование бензолом проводят  
трижды с перемешиванием каждый раз по 15 минут и отстаиванием в течение 5-6 часов.  
Отстоявшееся бензольное извлечение промывают 3 раза водой очищенной и упаривают  
под вакуумом при температуре 40°C. Затем трижды при нагревании азеотропно  
отгоняют бензол. Недостатком данного метода является сложный многостадийный  
20 процесс производства, предусматривающий длительные термические, химические и  
механические обработки, в процессе производства используется токсичный растворитель  
- бензол (канцероген, провоцирующий лейкемию). Недостатки метода проистекают из  
ложной посылки авторов, что основными антибактериальными соединениями  
эвкалиптов являются хлорофиллы, на извлечение которых в виде устойчивых медных  
25 солей ориентирован данный метод. (Основные действующие вещества эвкалиптов,  
ответственные за антибактериальные эффекты - терпеноидные фенолальдегиды  
(эуглобали и макрокарпали), были впервые выделены и описаны только в 1983 году.)

Известен «Способ получения хлорофиллипта» (патент RU 2416423, МПК А61К 36/  
61, В01D 11/02, опубл. 20.04.11) из листьев эвкалипта, включающий измельчение листьев,  
30 экстракцию этиловым спиртом, разделение твердой и жидкой фаз, упаривание  
спиртового извлечения, обработку кубового остатка раствором сернокислой меди и  
органическим растворителем, промывку полученного извлечения водой, упаривание  
и удаление остатков органического растворителя, отличающийся тем, что обработку  
кубового остатка осуществляют 8%-ным водным раствором сернокислой меди, а в  
35 качестве органического растворителя используют хлороформ, при этом смесь кубового  
остатка и 8%-ного водного раствора сернокислой меди охлаждают до комнатной  
температуры, затем в нее подают хлороформ, перемешивают и отстаивают до расслоения  
на фазы, последние разделяют, а водную фазу экстрагируют по меньшей мере четыре  
40 раза хлороформом при перемешивании, все хлороформные извлечения объединяют,  
промывают однократно водой, после чего обрабатывают 8%-ным водным раствором  
сернокислой меди и затем промывают водой, упаривают до густого состояния, а остатки  
хлороформа удаляют путем добавления этилового спирта, полученный спиртовой  
концентрат доупаривают в вакууме до полного удаления этилового спирта.  
Принципиально данный способ отличается заменой бензола на хлороформ для отделения  
45 действующих веществ от балласта, в остальном все недостатки метода, указанные для  
оригинального способа получения хлорофиллипта, сохранились.

Известен «Способ получения вещества «Эвкалимин», обладающего антимикробной и противовирусной активностью» (патент SU 1438042, МПК А61К 35/78, опубл. 07.07.93)

путем экстракции листьев или побегов эвкалипта прутовидного хлороформом, или дихлорэтаном, или хлористым метиленом, или четыреххлористым углеродом, упаренный экстракт обрабатывают гидроксидом натрия, щелочные извлечения подкисляют концентрированной соляной кислотой, выпавший осадок отфильтровывают, 5 высушивают и очищают на окиси алюминия при 10-17%-ным насыщении ее водой в соотношении полупродукт:сорбент 1:7, в качестве элюента используют этиловый спирт. Элюат сгущают и обрабатывают 0,1% раствором соляной кислоты, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат. Принципиально получение эвкалимина отличается от получения хлорофиллипта извлечением терпеноидных фенолальдегидов 10 и тритерпеновых соединений (противомикробная и противовирусная активность), хлорофилл в препарате отсутствует. Недостатками способа является многостадийность, использование хлорсодержащих углеводородов и агрессивных реактивов.

Известен «Способ получения препарата Эвкалимин» (патент RU 2032414, МПК А61К 35/78, опубл. 10.04.95) путем экстракции листьев или побегов эвкалипта 15 прутовидного органическим растворителем, упаривания экстракта, обработки упаренного экстракта гидроксидом натрия, осаждения соляной кислотой при рН 1,0, фильтрации, промывки осадка и его высушивания, очистки на окиси алюминия при 10-17%-ным насыщении ее водой в соотношении полупродукт:сорбент 1:7, элюции целевого продукта спиртом, упаривания, повторного осаждения соляной кислотой, фильтрации, 20 промывки и сушки осадка, отличающийся тем, что в качестве сырья используют шрот после отгонки эфирного масла, а экстракцию сухого сырья проводят С<sub>1</sub>-С<sub>3</sub> спиртами или хлорсодержащими углеводородами в соотношении сырье:растворитель 1:7 или С<sub>1</sub>-С<sub>3</sub> спиртами в соотношении 1:14 для влажного сырья. Недостатками способа 25 остаются многостадийность и использование агрессивных реактивов.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому эффекту является «Способ получения лекарственного препарата, содержащего медные аналоги хлорофилла» (патент RU 2320360, МПК А61К 36/61, А61Р 33.00, опубл. 27.03.08) (этот препарат является аналогом «Хлорофиллипта» и выпускается под торговым названием «Галенофиллипт») путем экстракции листьев эвкалипта прутовидного и последующей 30 обработкой полученного экстракта солью меди, отличающийся тем, что экстракцию листьев эвкалипта прутовидного проводят 95-96%-ным этанолом в течение 1-2 суток без перемешивания при температуре 18-24°C при массовом соотношении листьев эвкалипта прутовидного к этанолу 1:(5-6) с отстаиванием полученного продукта в течение 2-3 суток при температуре не выше 6-8°C, его фильтрацией и последующей 35 обработкой полученного экстракта солью меди в течение 6-24 часов при температуре 18-24°C, при этом в качестве соли меди используют медь двуххлористую 2-водную или 5-10%-ный спиртовой раствор меди двуххлористой 2-водной при мольном соотношении хлорофилла, содержащегося в полученном экстракте, к меди двуххлористой 2-водной 1:(3-4). В данном способе отсутствует очистка извлечения путем избирательной 40 экстракции действующих веществ бензолом, стандартизация препарата осуществляется в том числе и по содержанию терпеноидных фенолальдегидов, однако принципиальный недостаток, связанный с целевой экстракцией хлорофиллов и нахождении их в препарате в виде медных солей, сохранился.

Анализ приведенных выше способов получения антибактериальных препаратов из 45 листьев эвкалипта прутовидного («Хлорофиллипта», «Эвкалимина» и «Галенофиллипта») позволил нам сформулировать основные принципы, которые могут быть положены в новой технологии получения антибактериального препарата из эвкалипта. Первое - основные действующие вещества антибактериального действия -

терпеноидные фенолальдегиды. Второе - хлорофиллы являются сопутствующими (балластными), а не действующими веществами. В препарате «Эвкалимин» хлорофиллов не содержится, однако его антибактериальная активность выше, чем у «Хлорофиллипта» и «Галенофиллипта» (за счет более высокой концентрации терпеноидных фенолальдегидов). Сопутствующие (балластные) вещества принципиально не ухудшают качество препарата (препарат «Галенофиллипт» представляет собой неочищенный спиртовой экстракт), но получение растворов с высокой концентрацией терпеноидных фенолальдегидов простой экстракцией спиртом невозможно. Нами была поставлена задача получить антибактериальный препарат из листьев эвкалипта прутовидного, технология которого позволяла получать высокие концентрации терпеноидных фенолальдегидов без сложных процедур очистки от сопутствующих веществ и не предусматривала обязательное извлечение хлорофиллов.

Заявляемое изобретение относится к способам получения лекарственных препаратов методом экстракции органическим растворителем природного сырья, а именно эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L.), относящегося к семейству миртовых (Myrtaceae), с последующей отгонкой растворителя и получением спиртового раствора нативного лекарственного комплекса, содержащего в качестве активного начала терпеноидные фенолальдегиды, по содержанию которых будет осуществляться контроль качества препарата.

Лекарственный препарат, получаемый согласно заявляемому способу, назван нами «Флорофелипт» и представляет собой спиртовой раствор для приема внутрь и местного применения, предназначенный для использования в медицине в качестве эффективного противомикробного средства, в особенности - при наличии антибиотикоустойчивых штаммов золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*).

Поставленная задача по получению эффективного антимикробного препарата достигается способом получения препарата экстракцией из листьев эвкалипта прутовидного органическим растворителем, в котором экстракцию высушенных и измельченных до размера частиц не более 1 мм листьев эвкалипта прутовидного проводят петролейным эфиром с температурой кипения растворителя 40-70°C при температуре кипения растворителя и соотношении 1:50 соответственно дважды по 30 минут, объединяют экстракты, упаривают, высушивают и сухой остаток растворяют в 95% этиловом спирте.

Пример. 20,0 г измельченных листьев эвкалипта прутовидного (размер частиц не более 1 мм) помещают в стеклянную колбу, заливают 1:50 (1000 мл) петролейного эфира с температурой кипения 40-70°C и экстрагируют при температуре кипения растворителя в течение 30 минут с обратным холодильником. После охлаждения раствор отфильтровывают в другую колбу, к сырью, оставшемуся в колбе, приливают 1000 мл петролейного эфира с температурой кипения 40-70°C и повторно экстрагируют 30 минут в тех же условиях. После охлаждения профильтровывают через тот же фильтр в колбу с первой порцией экстракта. Полученное извлечение упаривают до сухого остатка. Сухой остаток растворяют в 100 мл 95% этилового спирта и отфильтровывают.

Данным способом удается извлекать 90-95% терпеноидных фенолальдегидов, находящихся в листьях эвкалипта прутовидного.

Количественную оценку противомикробного действия препарата «Флорофелипт» проводили в сравнении с препаратами «Хлорофиллипт» (раствор спиртовой 1%) и «Галенофиллипт» (препарат «Эвкалимин» на рынке в настоящее время отсутствует). Оценку антибактериальной активности проводили по ФС 42-1348-91 «Раствор хлорофиллипта 1% спиртовой» методом двукратных серийных разведений на

мясопептонном бульоне (рН 7,0) с тест-микробом *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P и метициллин-резистентным штаммом *Staphylococcus aureus*. Антибактериальная активность препаратов оценивалась визуально, сравнивая прозрачность среды в каждой пробирке с двумя контрольными по наименьшей концентрации, давшей задержку роста тест-микроба. Пробирка, в которой отсутствовал рост тест-штамма, характеризовала минимальную подавляющую концентрацию (МПК) препарата. Поскольку метод серийных разведений в мясопептонном бульоне не всегда позволял визуально определить наличие или отсутствие роста из-за первоначальной мутности препаратов, нами был разработан метод, где антибактериальную активность извлечений определяли, используя мясопептонный агар, на поверхность которого в чашках Петри методом репликаций из каждой пробирки делали пересевы и инкубировали в термостате в течение 18-24 часов. По истечении времени фиксировали рост микроорганизмов на секторах чашки Петри. Разведение препарата, на котором отсутствовал рост тест-штамма, характеризовало антибактериальную активность препарата.

Полученные на музейном штамме *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1. Антибактериальная активность препаратов из листьев эвкалипта прутовидного на музейном штамме *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P

Препарат	Максимальное разбавление препарата, оказывающее бактерицидное действие
Флорофелипт	1:1280
Хлорофиллипт	1:512
Галенофиллипт	1:256

Полученные результаты показывают, что антибактериальная активность полученного нами препарата для золотистого стафилококка в 2,5 раза выше, чем у «Хлорофиллипта», и в 5 раз выше, чем у «Галенофиллипта».

Таблица 2. Антибактериальная активность препаратов из листьев эвкалипта прутовидного на антибиотикоустойчивых штаммах *Staphylococcus aureus*

Препарат	Максимальное разбавление препарата, оказывающее бактерицидное действие	
	Клинические штаммы <i>Staphylococcus aureus</i> , устойчивые к антибиотикам	Метициллиноустойчивый музейный штамм <i>Staphylococcus aureus</i>
Флорофелипт	1:640 – 1:1280	1:640
Хлорофиллипт	1:128 – 1:512	1:64
Галенофиллипт	1:64 – 1:256	1:64

В таблице 2 представлены результаты сравнительного изучения антибактериальной активности тех же препаратов в отношении клинических штаммов стафилококков с использованием 24 штаммов патогенных микроорганизмов вида *Staphylococcus aureus*.

79% штаммов были резистентны к бензилпенициллину, 13% - к эритромицину. Все остальные штаммы были чувствительны к используемым в опыте антибиотикам. Так как среди клинических штаммов *Staphylococcus aureus* не было образцов, чувствительных к оксациллину, мы провели оценку антибактериальной активности препаратов на музейном штамме MRSA.

Полученные результаты показывают, что антибактериальная активность полученного нами препарата для клинических штаммов золотистого стафилококка, устойчивых к антибиотикам, также в 2,5 раза превосходила активность «Хлорофиллипта» и в 5 раз была выше, чем у «Галенофиллипта». Для музейного штамма, устойчивого к метициллину, разница в активности составила 10 раз.

Как уже отмечалось, носителями антибактериальной активности в листьях эвкалипта прутовидного являются терпеноидные фенолальдегиды. Содержание данных соединений в полученном нами препарате составило  $0,92 \pm 0,02\%$ . Таким образом, МПК суммы терпеноидных фенолальдегидов для музейного штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-R составила 7,2 мкг/мл, а для метициллинустойчивого штамма - 14,4 мкг/мл.

Таким образом, как видно из приведенных выше данных, достоверно установлено, что лекарственный препарат «Флорофелипт», полученный согласно заявляемому способу, обладает более высокой антибактериальной активностью по сравнению с препаратами «Хлорофиллипт» (раствор спиртовой 1%) и «Галенофиллипт».

#### Формула изобретения

Способ получения антибактериального препарата путем экстракции листьев эвкалипта прутовидного органическим растворителем, отличающийся тем, что экстракцию высушенных измельченных до размера частиц не более 1 мм листьев эвкалипта прутовидного проводят петролейным эфиром с температурой кипения 40-70°C при температуре кипения растворителя, при соотношении 1:50 соответственно дважды по 30 минут, объединяют экстракты, упаривают, высушивают и сухой остаток растворяют в 95% этиловом спирте.