



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **149029** (13) **U**
(51) МПК (2021.01)
A61L 9/013 (2006.01)
A61K 36/00
A61K 36/736 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2021 01441	(72) Винахідник(и): Паллаг Олександра Володимирівна (UA), Мелешко Тамара Вадимівна (UA), Симочко Таїсія Михайлівна (UA), Бойко Надія Володимирівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.03.2021	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 14.10.2021	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 13.10.2021, Бюл.№ 41	(73) Володілець (володільці): ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "ЕДІЄНС", вул. Східна, 5, с. Великі Лази, Ужгородський р-н, Закарпатська обл., 89440 (UA), ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", вул. Підгірна, 46, м. Ужгород, 88000 (UA)

(54) ПРОЦЕС ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН PRUNUS DOMESTICA ЯК АКТИВНОЇ ОСНОВИ ПРИРОДНОГО ДЕЗІНФЕКТАНТУ БАГАТОЦІЛЬОВОГО ПРИЗНАЧЕННЯ**(57) Реферат:**

Процес одержання біологічно активних речовин *Prunus domestica* як активної основи природного дезінфектанту багатоцільового призначення, що містить біологічно активні речовини, полягає у тому, що здійснюють екстракцію біологічно активних речовин 80 % розчином метанолу подрібнених ягід сливи домашньої у співвідношенні суміші сировини і екстрагента 1:2 при кімнатній температурі протягом 2 год. Процедуру здійснюють при постійному перемішуванні в темній посудині. Суміш настоюють протягом 0,5 год., фільтрують та вакуумно відпарюють розчинник при температурі 30 °С, одержують на цій стадії фільтрат, який являє собою розчин бурого кольору без запаху. Після вакуумного випарювання екстрагента отримують водний розчин, при наступному співвідношенні компонентів, мкг/мл:

ціанідин-3-рутинозид	9,4±0,38
ціанідин-3-глікозид	1,63±0,07
пеонідин-3-рутинозид	7,8±10,34.

UA 149029 U

Корисна модель належить до галузі мікробіології, а саме стосується процесів одержання засобів, які характеризуються антибактеріальними властивостями та використовуються у складі фармабіотиків для зовнішнього (спреї, аерозолі) чи для внутрішнього застосування для спрямованої синергічної корекції (кишкового) мікробіому людини.

5 Відомо, що рослини містять у своєму складі біологічно активні речовини, завдяки яким вони мають про- та антибактеріальні властивості і завдяки цьому перспективною є розробка біологічних дезінфектантів та фармабіотиків нового покоління на їх основі. Актуальним є використання рослинних продуктів (їх екстрактів) як антимікробних засобів. Рослини виробляють безліч вторинних метаболітів, які є необхідними для забезпечення їх фізіологічних функцій. До природних біологічно активних речовин, що мають протимікробну дію, належать рослинні антибіотики, фітонциди, ефірні олії, бальзами, смоли, дубильні речовини, органічні кислоти, алкалоїди, глікозиди [1]. Склад біологічно активних речовин в рослинах безпосередньо залежить від кліматичних умов та регіону їх вирощування [2].

10 Відомий антимікробний лікарський засіб, що містить 70 % спиртовий екстракт із луски цибулі ріпчастої при їх співвідношенні 1:10 [2]. До недоліків можна віднести високу вартість одержання через високу вартість етанолу.

15 Найбільш близьким аналогом є засіб для обпилення слизової оболонки кишечника, що містить компоненти рослинного походження, зокрема меліси лікарської, деревію звичайного і супліддя вільхи сірої та додатково містить пробіотик ентерол [3]. Недоліком цього засобу є те, що він має вузькоспрямовану дію, використовується лише для обпилювання слизової оболонки товстої кишки запропонованим способом.

20 В основу корисної моделі поставлено задачу одержати біологічно активні речовини, екстраговані з ягід *Prunus domestica* (вирощених на території Ужгородського району, Закарпатської області), як активну основу природного дезінфектанту багатоцільового призначення з чітко визначеним біохімічним складом, про- та антибактеріальними властивостями.

25 Поставлена задача вирішується тим, що запропоновано процес одержання біологічно активних речовин *Prunus domestica* як активної основи природного дезінфектанту багатоцільового призначення, що містить біологічно активні речовини, у якому згідно з корисною моделлю, здійснюють екстракцію біологічно активних речовин 80 % розчином метанолу подрібнених ягід сливи домашньої у співвідношенні суміші сировини і екстрагента 1:2 при кімнатній температурі протягом 2 год., процедуру здійснюють при постійному перемішуванні в темній посудині, суміш настоюють протягом 0,5 год., фільтрують та вакуумно відпарюють розчинник при температурі 30 °С, одержують на цій стадії фільтрат, який являє собою розчин бурого кольору без запаху, після вакуумного випарювання екстрагента отримують водний розчин, при наступному співвідношенні компонентів, мкг/мл:

ціанідин-3-рутинозид	9,4±0,38
ціанідин-3-глікозид	1,63±10,07
пеонідин-3-рутинозид	7,8±10,34.

30 Заявлена корисна модель характеризується вираженими антибактеріальними властивостями стосовно клінічних штамів умовно-патогенних бактерій (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*), здатна стимулювати ріст штамів лактобактерій представників коменсальної мікробіоти: *Lactobacillus acidophilus* C-01, *Lactobacillus acidophilus* C-02, *Lactobacillus acidophilus* C-03, *Lactobacillus acidophilus* C-04, та пробіотичних штамів *Lactobacillus plantarum* IMB B-7413, *Lactobacillus paracasei* 1MB B-7483, *Lactobacillus casei* 1MB B-7412, *Lactobacillus plantarum* IMB B-7414, при цьому одержані біологічно активні речовини *Prunus domestica* є безпечними для культури клітин людини, а саме не призводять до загибелі дермальних фібробластів новонароджених.

45 Заявлений процес одержання біологічно активних речовин *Prunus domestica* як активної основи природного дезінфектанту багатоцільового призначення безпосередньо призначений для:

- 1) попередження псування свіжої рослинної продукції;
- 50 2) як активна основа природних біологічних дезінфектантів, з наступним застосуванням для обробки повітря у відділеннях клінік з метою попередження циркуляції збудників нозокоміальних інфекцій, зокрема у родових і післяродових відділеннях;
- 3) як пребіотична складова з доведеною синергічною дією у конструюванні фармабіотиків нового покоління для перорального вжитку.

55 Як антибактеріальні препарати запропоновано екстракти ягід сливи домашньої сорту *Prunus domestica* у співвідношенні сировина-екстрагент 1:2.

Процес реалізується наступним чином.

Здійснюють екстракцію біологічно активних речовин 80 % розчином метанолу подрібнених ягід сливи домашньої при співвідношенні суміші сировини і екстрагента 1:2 при кімнатній температурі протягом 2-х год. Дану процедуру здійснюють при постійному перемішуванні в темній посудині з подальшим настоюванням протягом 0,5 год., з подальшою фільтрацією та вакуумним відпарюванням розчинника при температурі 30 °С. Одержаний на цій стадії фільтрат являє собою розчин бурого кольору без запаху. Після вакуумного випарювання екстрагента розчин готовий до застосування. Всі дослідження проводили на готовому розчині, який містить наступний склад біологічно активних речовин, мкг/мл:

ціанідин-3-рутинозид	9,4±0,38
ціанідин-3-глікозид	1,63±0,07
пеонідин-3-рутинозид	7,8±0,34.

Анти- та пробактеріальні властивості заявленої корисної моделі перевіряли на клінічних штаммах умовно-патогенних мікроорганізмів (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*), коменсальних штаммах лактобактерій, а саме: *Lactobacillus acidophilus* C-01, *Lactobacillus acidophilus* C-02, *Lactobacillus acidophilus* C-03, *Lactobacillus acidophilus* C-04, які ізолювані від здорових людей та штаммах лактобактерій, як ізолювані нами раніше з річних джерел, зокрема, *Lactobacillus plantarum* IMB B-7413 з кишечника здорової людини, *Lactobacillus paracasei* IMB B-7483, *Lactobacillus casei* IMB B-7412, *Lactobacillus plantarum* IMB B-7414 з ферментованих продуктів харчування, ідентифіковані (MALDI з наступним секвенуванням) і зареєстровані в Депозитарії цінних культур колекції мікроорганізмів IMB НАНУ як штамми, перспективні для розробки сучасних фармабіотиків.

Вивчення здатності екстракту сливи пригнічувати та стимулювати відібрані нами мікроорганізми, здійснювали методом їх культивування в одержаному екстракті сливи.

Кількісний вміст антоціанів визначали в метанольних екстрактах за допомогою методу тонкошарової хроматографії (BRPX). Всі досліди проводили в трьох повторях. За допомогою хроматографічного аналізу екстрактів ягід та плодів було визначено кількісний вміст антоціанів у кожному екстракті. Плоди сливи (*Prunus domestica*) в своєму складі містять 3 типи сполук антоціанідинів: ціанідин-3-глікозид (1,63±0,07 мкг/мл), ціанідин-3-рутинозид (9,41±0,38 мкг/мл), пеонідин-3-рутинозид (7,8±0,34 мкг/мл).

Таблиця 1

Кількісний вміст антоціанів в екстрактах ягід сливи

№ п/п	Ізолювані сполуки антоціанів, мкг екв. ціанідин-3-рутинозиду/мл екстракту ±SD	<i>Prunus domestica</i>
1	2	3
1	ціанідин-3-рутинозид	9,4±0,38
2	ціанідин-3-глікозид	1,63±0,07
3	пеонідин-3-рутинозид	7,8±0,34

Таблиця 2

Біологічний вплив екстрактів плодів і ягід на ріст LAB в динаміці

Екстракт	<i>L. plantarum</i> IMB B-7413, КУО/мл		<i>Lactobacillus paracasei</i> IMB B-7483, КУО/мл		<i>L. casei</i> IMB B-7412, КУО/мл		<i>L. plantarum</i> IMB B-7414, КУО/мл	
	14 год.	24 год.	14 год.	24 год.	14 год.	24 год.	14 год.	24 год.
Вихідна концентрація	1,5×10 ⁸	1,5×10 ⁸	1,5×10 ⁸	1,5×10 ⁸	1,5×10 ⁸	1,5×10 ⁸	1,5×10 ⁸	1,5×10 ⁸
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Prunus domestica</i>	1·10 ⁷ ±0,2*	7,5·10 ⁸ ±0,5*	1·10 ⁸ ±0,26*	0,5·10 ⁸ ±0,29*	0,5·10 ⁸ ±0,5*	1·10 ⁸ ±0,5*	1·10 ⁸ ±0,78*	0,54·10 ⁸ ±0,38*

*- p<0,05 достовірні різниці при дії екстракту на штамми LAB

30

Згідно з даними, представленими в таблицях 2 та 3, екстракт сливи має здатність стимулювати ріст всіх досліджуваних нами штамів лактобактерій, а найбільш стимулюючий ефект спостерігали при дії екстракту сливи на штам *Lactobacillus plantarum* IMB B-7413.

Таблиця 3

Результати культивування лактобактерій з різними екстрактами протягом 14 і 24 годин

Екстракт	Значення lg (N _t /N ₀) для штамів L. acidophilus C-01, L. acidophilus C-02, L. acidophilus C-03, L. acidophilus C-04 на 14-ту та 24-ту годину культивації							
	L. acidophilus C-01		L. acidophilus C-02		L. acidophilus C-03		L. acidophilus C-04	
	14 год.	24 год.	14 год.	24 год.	14 год.	24 год.	14 год.	24 год.
Слива (Prunus domestica)	+0,01±0,2	+0,05±0,5	+0,05±0,26	+0,06±0,29	-0,09±0,5	+0,06±0,5	+0,01±0,78	+0,05±0,38

* Має місце статистично значуще підтвердження інгібуючої дії екстракту (p<0,05).

Із таблиці 4 видно, що у більшості випадків отримано додатні середні значення величини lg(N_t/N₀), котрі вказують на стимулюючу дію екстракту.

5

Таблиця 4

Антимікробна активність екстракту сливи стосовно умовно-патогенних мікроорганізмів

Час культивування, год.	K. pneumoniae			P. aeruginosa			S. aureus			E. cloacae		
	24	14	4	24	14	4	24	14	4	24	14	4
Prunus domestica	-**	-**	4±0,25	-**	4,47±0,29	0,47±0,29	-**	-**	6,47±0,29	-**	-**	5,17±0,29

Примітка: * - p<0,05 достовірна різниця при дії екстракту штами умовно-патогенних бактерій
** - ріст мікроорганізмів відсутній

В таблиці 4 представлено антимікробні властивості екстракту сливи проти умовно-патогенних бактерій. Доведено, що екстракт сливи здатний пригнічувати ріст K. pneumoniae, P. aeruginosa, S. aureus, E. cloacae.

10 Аналіз отриманих даних, які представлені у таблицях 2, 3 та 4 про- та антибактеріальних властивостей пропонує нами біологічно активних речовин, які здатні пригнічувати ріст умовно-патогенних штамів бактерій і водночас не інгібують, а навіть стимулюють ріст лактобактерій, що свідчить про їх нешкідливість організму людини.

15 Корисна модель може використовуватись у харчовій промисловості при кінцевій обробці готової до споживання продукції, а також для обробки свіжих овочів і фруктів, що попереджає їх передчасне псування, в медичній сфері, зокрема в родових відділеннях та післяродових палатах, а також як пребіотична складова при розробці новітніх фармабіотиків - біопрепаратів нового покоління.

20

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Процес одержання біологічно активних речовин Prunus domestica як активної основи природного дезінфектанту багатоцільового призначення, що містить біологічно активні речовини, який відрізняється тим, що здійснюють екстракцію біологічно активних речовин 80 % розчином метанолу подрібнених ягід сливи домашньої у співвідношенні суміші сировини і екстрагента 1:2 при кімнатній температурі протягом 2 год., процедуру здійснюють при постійному перемішуванні в темній посудині, суміш настоюють протягом 0,5 год., фільтрують та вакуумно відпарюють розчинник при температурі 30 °С, одержують на цій стадії фільтрат, який являє собою розчин бурого кольору без запаху, після вакуумного випаровування екстрагента отримують водний розчин, при наступному співвідношенні компонентів, мкг/мл:

ціанідин-3-рутинозид	9,4±0,38
ціанідин-3-глікозид	1,63±0,07
пеонідин-3-рутинозид	7,8±10,34.

30

UA 149029 U

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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