



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 196 596** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) МПК⁷ **A 61 K 35/78**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 2000130063/14, 30.11.2000
(24) Дата начала действия патента: 30.11.2000
(46) Дата публикации: 20.01.2003
(56) Ссылки: RU 2138279 C1, 27.09.1999. RU 2137479 C1, 20.09.1999. RU 2054945 C1, 27.02.1996. GB 872892 12.07.1961.
(98) Адрес для переписки:
194017, Санкт-Петербург, а/я 71, Сабуровой
Г.П.

(71) Заявитель:
СОЛАГРАН ЛИМИТЕД (AU)
(72) Изобретатель: Роцин В.И. (RU),
Султанов Вагиф Султанович (AU)
(73) Патентообладатель:
СОЛАГРАН ЛИМИТЕД (AU)
(74) Патентный поверенный:
Сабурова Галина Петровна

(54) ВИРУЛИЦИДНОЕ, БАКТЕРИЦИДНОЕ, ФУНГИЦИДНОЕ СРЕДСТВО

(57)
Изобретение относится к медицине, в частности к фармакологии и может быть использовано в качестве средства, обладающего вирулицидным, бактерицидным и фунгицидным действием. Сущностью изобретения является применение парегидроксиацетофенона, полученного при

переработке продуктов древесной зелени хвойных пород, в качестве вирулицидного, бактерицидного и фунгицидного средства. Техническим результатом является расширение арсенала препаратов растительного происхождения, обладающих активными вирулицидными, бактерицидными и фунгицидными свойствами. 2 табл.



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 196 596** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **A 61 K 35/78**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 2000130063/14, 30.11.2000

(24) Effective date for property rights: 30.11.2000

(46) Date of publication: 20.01.2003

(98) Mail address:
194017, Sankt-Peterburg, a/ja 71, Saburovoj G.P.

(71) Applicant:
SOLAGRAN LIMITED (AU)

(72) Inventor: Roshchin V.I. (RU),
Sultanov Vagif Sultanovich (AU)

(73) Proprietor:
SOLAGRAN LIMITED (AU)

(74) Representative:
Saburova Galina Petrovna

(54) **VIRUCIDAL, BACTERICIDAL, FUNGICIDE AGENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmacology.
SUBSTANCE: medicinal agent presents para-hydroxyacetophenone obtained from wood greens of coniferous strains by successive extraction with benzine, alkali aqueous solution and hydrocarbon extractant. Agent can be used as preparation exhibiting

virucidal, bactericidal and fungicide effect for treatment of sicknesses caused by pathogenic viruses, fungi and microorganisms. EFFECT: expanded assortment of preparations of vegetable origin, enhanced virucidal, bactericidal and fungicide properties. 2 tbl

Изобретение относится к области медицины, фармакологии и может быть использовано в качестве средства, обладающего вирулицидным, бактерицидным и фунгицидным действием для лечения заболеваний, вызванных патогенными вирусами, грибами (дрожжи) и микроорганизмами.

Известен ряд лекарственных препаратов растительного происхождения (например, из хвои сосны, ели), которые в виде настоек, масел применяются для лечения таких заболеваний, как ангина, гайморит, хроническое воспаление легких и др. (А.Ф. Гаммерман и др. Лекарственные растения. М.: Высшая школа, 1990 г., с.94-100).

Известно применение пихтовой воды, которая является отходом при получении пихтового масла, в качестве вещества, обладающего противовоспалительным, биостимулирующим и общеукрепляющим действием (SU 1805966, А 61 К 35/78, 1986 г.).

Известно средство, обладающее противовоспалительной, антибактериальной и ранозаживляющей активностью (RU 2054945, А 61 К 35/78, 1991 г.). Оно содержит капсульный экстракт пихты сибирской 19,0-20,0, монотерпеновые соединения эфирных масел 0,02-0,20 и растительное масло - остальное.

Известно применение фракции лабдановых спиртов - продукта переработки зелени хвойных пород в качестве вирулицидного, бактерицидного, фунгицидного средства (RU 2138279, А 61 К 35/78, 1997 г.).

Задача, на решение которой направлено настоящее изобретение является расширение арсенала препаратов растительного происхождения, обладающих более активными вирулицидными, бактерицидными, фунгицидными свойствами.

Данная задача решается тем, что в качестве вирулицидного, бактерицидного, фунгицидного средства применяют парогидроксиацетофенон, полученный при переработке продуктов древесной зелени хвойных пород.

Способ получения парогидроксиацетофенона заключается в следующем. Измельченную древесную зелень хвойных пород экстрагируют бензином. Полученный остаток освобождают от бензина и подвергают экстракции водным раствором щелочи.

Затем отделяют древесную зелень от водного щелочного раствора и водный щелочной раствор подкисляют до pH 6-7 и экстрагируют углеводородным экстрагентом. Потом углеводородный экстрагент отгоняют и получают остаток, который содержит парогидроксиацетофенон чистотой 60-70%.

Были проведены исследования вирулицидных, бактерицидных и фунгицидных свойств парогидроксиацетофенона.

Для изучения и сравнения были взяты следующие вещества:

1. Хлорофиллин натрия.
2. Хлорофиллокаротиновая паста хвойная.
3. Концентрат провитаминный хвойный.
4. Парогидроксиацетофенон, выделенный из хвои ели европейской.

Для изучения противомикробной активности полученных веществ была

использована культура *Candida albicans* штамм 13 из музея ВКПГ (Российская коллекция патогенных грибов), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 p, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aureginosa* из музея ГИСК им. Тарасовича.

Candida albicans - дрожжеподобный гриб, наиболее частый возбудитель кандидоза различной локализации. Кандидоз - это оппортунистическая инфекция, возникающая на фоне "факторов риска" (применение широкоспектральных антибиотиков, кортикостероидов, цитостатиков, иммунодепрессантов при ВИЧ-инфекции и т.п.).

Staphylococcus aureus - грам-положительный микроорганизм, частый сапрофит на коже и слизистых оболочках. Возбудитель воспалительных заболеваний различной локализации.

Escherichia coli - грам-отрицательный микроорганизм. Обнаруживается в желудочно-кишечном тракте у человека и животных. Частая причина циститов, пиелонефрита, холецистита, септаемии, раневых инфекций. Некоторые штаммы - причина тяжелых диарей у детей.

Pseudomonas aureginosa грам-отрицательный микроорганизм. Обнаруживается в каловых массах, на коже, в воде, в воздухе, в почве. Частый возбудитель латентных инфекций. Иногда является причиной менингита, респираторных, уринарных, кишечных инфекций у детей. Вызывает тяжелые септицемии у пациентов с иммунодефицитами.

Методика проведения эксперимента была следующей.

Противомикробную активность веществ 1-4 определяли методом серийных разведений. Суспензия дрожжеподобного гриба готовилась на изотоническом растворе хлористого натрия из 2-х суточных культур *Candida albicans* густотой 10 ед. по бактериальному стандарту (10⁹ бак клеток в мл), что соответствует 10⁷ дрожжеподобных организмов.

Противобактериальная активность проверялась на суспензии бактериальных суточных культур густотой 5 ед. по бактериальному стандарту.

Навески исследуемого вещества растворяли в диметилсульфоксиде из расчета 40 мг/мл (максимум растворения ряда веществ). Для лучшей растворимости многие субстанции приходилось нагревать до 80°C.

Приготавливали ряд пробирок, в первую из которых наливали 1,8 мл среды Сабуро (для дрожжеподобных грибов) или мясопептидного бульона (для бактерий); во все последующие - по 1 мл среды. Из пробирки с исходным раствором препарата в первую пробирку ряда добавляли 0,2 мл, из этой пробирки, после перемешивания, 1 мл переносили в следующую и так - до конца ряда. Таким образом, получается ряд разведений в убывающих концентрациях, кратный двум (40-20-10-5 и т.д. мг/мл). Затем в каждую пробирку испытуемого ряда добавляли по 0,1 мл взвеси микроорганизма.

В каждом титровании имелись три контрольных пробирки: контроль культуры (пробирка без исследуемого препарата), контроль препарата (пробирка без культуры). Все контрольные и рабочие пробирки

инкубировали 2 суток при 37°C - для изучения дрожжеподобных грибов и 1 сутки при 37°C - для изучения чувствительности грам-положительных и грам-отрицательных бактерий.

Минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) испытуемого вещества считалось разведение в последней пробирке, где отсутствовал видимый рост культуры. Для определения минимальной микробоцидной концентрации (МЦК) из всех пробирок, где отсутствовал видимый рост гриба, делался высеv по 0,1 мл содержимого на чашки Петри с твердой питательной средой (агар Сабуро - для дрожжеподобных и мясопептонный бульон - для бактерий). Отсутствие роста свидетельствует о микробоцидном действии препарата в данном разведении.

Результаты исследований приведены в табл. 1-2.

Из всех исследованных веществ следует выделить субстанцию 4 (парагидроксиацетофенон из хвои ели европейской), как вещество с наибольшей фунгицидной и бактериальной активностью. Это вещество хорошо растворялось в ДМСО, в связи с чем удалось легко проанализировать соотношение между МИК и МЦК (4 МИК/МЦК для *Candida albicans* - 0,5; для *Staphylococcus aureus* - 0,06; для *E. coli* - 0,5). Отношения МИК/МЦК у субстанции 4 наиболее близки к единице, т. е. это вещество не только останавливает рост данных микроорганизмов, но и убивает их в близкой концентрации.

Активность субстанции 4 высока как в отношении дрожжеподобных грибов, так и в отношении грам-положительных и грам-отрицательных бактерий. Это вещество оказалось также наиболее активными для других дрожжеподобных и нитчатых грибов, имеющих большое значение в медицинском и экологическом плане.

Следует отметить, что исследованное

вещество значительно менее активно по сравнению с современными антибиотиками и синтетическими препаратами, где чувствительность измеряются в мкг/мл. Однако, учитывая природное происхождение и меньшую токсичность, меньшее кожно-раздражающее действие, это вещество может стать основой для разработки косметических и моющих средств.

Вирулицидную активность оценивали по снижению инфекционного титра вируса при прямом контакте вируса гриппа А/Гонконг 2/68 (H3 2), и гриппа В/Гонконг-1/68/С п-гидроксиацетофеноном по сравнению с контрольными. В качестве эталонного препарата использовали хлорофиллокаротиновую пасту. Результаты приведены в таблице 2.

Пара-гидроксиацетофенон через 30 минут контакта в концентрации 25 мг/мл инактивировал 10^3 инфекционных единиц вируса гриппа А и 10^2 единиц вируса В. Хлорофиллокаротиновая паста в концентрации 30 мг/мл снижала инфекционную активность вирусов гриппа А и В через 2 минуты в 100000 раз, а через 5 минут инфекционный вирус в растворе полностью отсутствовал.

Изобретение найдет применение в медицине в качестве средства, обладающего вирулицидным, бактерицидным и фунгицидным действием при лечении заболеваний, вызванных патогенными вирусами, грибами (дрожжи) и микроорганизмами.

Формула изобретения:

Лекарственное средство, обладающее вирулицидной, бактерицидной и фунгицидной активностью, представляющее собой парагидроксиацетофенон, полученный из древесной зелени хвойных пород последовательной экстракцией бензином, водным раствором щелочи и углеводородным экстрагентом.

Таблица 1

Микростатическая и микробоцидная активность природных соединений,
выделенных из хвойных растений (мг/мл)

Тест-культуры	Исследуемый материал							
	№1		№2		№3		№4	
	МИК	МЦК	МИК	МЦК	МИК	МЦК	МИК	МЦК
Candida albicans шт. 13	**	> 40 мг/мл при высеве – сильный рост	**	>40	**	40,0	1,25	2,5
Staphylococcus aureus ATCC – 6538p	**	>40	**	>40	**	>40*	0,312	5,0
Escherichia coli ATCC-25922	**	>40	**	>40*	**	>40*	1,25	2,5

- МИК - минимальная ингибирующая концентрация
- МЦК - минимальная микробоцидная концентрация
- ** - МИК не определяются, т.к. при растворении получается мутная взвесь

Таблица 2

Препарат	Концентрация (мг/мл)	Время контакта с вирусом (мин)	Снижение инфекционного титра вируса после контакта с испытуемыми препаратами (lg ИД 50)	
			Грипп А	Грипп И
п-гидроксиацетофенон	25	10	2,5	1,75
		30	3,0	2,0
		60	3,0	2,0
	2,5	10	1,90	1,0
		30	1,75	1,5
		60	1,75	1,5
Хлорофилло-каротиновая паста	30	2	5,0	5,0
		5	6,5	6,0
		30	6,5	6,5
	3,0	10	5,0	5,0
		30	6,5	6,0
		30	6,5	6,0