



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **143150** (13) **U**  
(51) МПК (2020.01)  
**C12Q 1/00**  
**G01N 1/28** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2020 01138</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>21.02.2020</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.07.2020</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.07.2020, Бюл.№ 13</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Лобань Галина Андріївна (UA), Фаустова Марія Олексіївна (UA), Басараб Ярослав Олексійович (UA), Ананьєва Майя Миколаївна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</b></p>
--	--

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТУ ПРОТЕФЛАЗИДУ**

**(57) Реферат:**

Спосіб визначення антибактеріальної активності екстракту протейфлазиду включає готування дослідних та контрольних зразків мікроорганізмів. Для антибактеріальної дії використовують робочий розчин протейфлазиду в кількості 1,0 см<sup>3</sup>, що містить не менше 0,32 мг флавоноїдів в перерахунку на рутин і не менше 0,3 мг суми карбонових кислот в перерахунку на яблучну кислоту. За допомогою мікропіпетки зі стерильним наконечником вносять в першу пробірку, що містить 1,0 см<sup>3</sup> бульйону, ретельно перемішують і новим стерильним наконечником переносять 1,0 см<sup>3</sup> розчину в бульйоні в наступну пробірку з 1,0 см<sup>3</sup> бульйону, повторюючи процедуру для приготування всього необхідного ряду розведень.

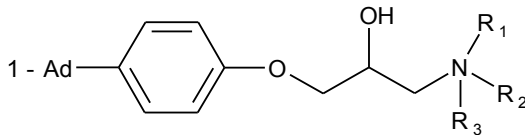
UA 143150 U



Корисна модель належить до медицини, а саме до медичної мікробіології, та може бути призначена для визначення ступеня антибактеріальної активності екстракту протейфлазиду.

Інфекційні хвороби в наш час залишаються значною проблемою охорони здоров'я у всьому світі, що тягне за собою необхідність пошуку нових препаратів для зменшення її масштабів [8]. В свою чергу використання антибіотиків призвело до виникнення значної стійкості мікроорганізмів різного ступеня патогенності до антибактеріальних препаратів, що активно застосовуються при лікуванні інфекцій. У зв'язку з цим в даний час пошук нових біологічно активних речовин природного походження, в тому числі рослинного, для профілактики та лікування захворювань інфекційного характеру займає важливе місце серед фармацевтичних досліджень [1]. Особлива увага науковців до препаратів рослинного походження обумовлена їх меншою токсичністю та досить широким спектром антибактеріальної та протівірусної дії [7, 4]. Оскільки виникнення асоційованих інфекцій сприяє створенню умов, за яких звичайна антибіотикотерапія є неефективною [2]. Це дає змогу розглядати препарати, діючою речовиною яких є флавоноїди екстракту протейфлазиду, як перспективну пошуку нових засобів ефективного лікування інфекційних хвороб [5]. Даний екстракт отримують шляхом спиртового екстрагування (96 %-й спирт) рослинної сировини - диких злаків *Calamadrostis epigeios* та *Deschampsia caespitosa*, з яких вилучаються стійкі молекулярні комплекси трицину, апигеніну, лютеоліну та кверцитину [6]. Протейфлазид сприяє підвищенню неспецифічної резистентності організму до вірусної та бактеріальної інфекції шляхом продукції ендogenous α- і γ-інтерферонів до фізіологічно активного рівня. Крім того, він запобігає накопиченню продуктів перекисного окислення ліпідів, пригнічуючи перебіг вільнорадикальних процесів. Екстракт є модулятором апоптозу та посилює дію апоптозіндукувальних речовин, що сприяє його значній антиоксидантній активності [3].

Серед тих, що відомі, є застосування четвертинних солей 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу, які виявляють протимікробну дію загальної формули:



(2-78)

де  $R_1=R_2$  - диметил, діетил, дипропіл,  $(-CH_2)_5$ ,  $(CH_2CH_2)_2O$ ,  $(CH_2)_6$ ,  $-(CH_2)_2CH(CH_3)(CH_2)_2-$ ,  $-CH_2CH(CH_3)(CH_2)_2$ ,  $(CH_2)_4$ ,

$R_1=CH_3$   $R_2$ -цикло $C_5H_{11}$ ,  $R_3=4$ -Cl-бензил; 4-F-бензил; 3,4-дихлорбензил; 2,5-диметилбензил; 2,4-дихлорбензил, 2-хлорбензил, 4- $CH_3$ -бензил, які виявляють протимікробну дію. Пат. на корисну модель 126151. Україна, МПК С07С 213/00, С07С 215/00, А01N 33/00. ЗАСТОСУВАННЯ ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ 1-[4-(1-АДАМАНТИЛ)-ФЕНОКСИ]-3-ДІАЛКІЛАМІНО-2-ПРОПАНОЛУ, ЯКІ ВІЯВЛЯЮТЬ ПРОТИМІКРОБНУ ДІЮ / Автори: Короткий Юрій Васильович (UA); Вринчану Ніна Олексіївна (UA); Дудікова Дар'я Маратівна (UA); Смертенко Олена Аронівна (UA); заявник та патентовласник: ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАН УКРАЇНИ, вул. Мурманська, 5, м. Київ-94, 02260 (UA); ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. Ежена Потье, 14, м. Київ-37, 03057 (UA). - № u201712682; Заявл. 21.12.2017; Опубл. 11.06.2018. бюл. № 11/2018.

Також відома фармацевтична композиція протимікробної дії у формі мазі, яка містить органічний пероксид та гідрофільну водорозчинну основу, яка відрізняється тим, що як органічний пероксид містить дипероксіазелаїнову кислоту, а гідрофільну водорозчинну основу утворюють фармацевтично прийнятні допоміжні речовини при наступному співвідношенні компонентів (мас. %): дипероксіазелаїнова кислота: 0,8-1,2, гідрофільна водорозчинна основа: решта.

2. Фармацевтична композиція за п. 1, яка відрізняється тим, що до складу гідрофільної водорозчинної основи уведенні ПЕО-400, ПЕО-1500, натрію едетат, при наступному співвідношенні компонентів (мас. %):

дипероксіазелаїнова кислота	0,8-1,2
ПЕО-400	79,0-79,4
ПЕО-1500	20,19-19,38
натрію едетат	0,01-0,02.

Пат. на корисну модель 116464 Україна, МПК А61К 31/327 (2006.01), А61К 9/06(2006.01), А61Р 17/10(2006.01). ПРОТИМІКРОБНИЙ ЗАСІБ / Автори: Присяжнюк Олександр Васильович (UA); Блажеєвський Микола Євстахійович (UA); Стрельников Леонід Семенович (UA); заявник та

патентовласник: НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA). - № u201611540: Заявл. 14.11.2016; Опубл. 25.05.2017, бюл. № 10/2017.

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб визначення протимікробної активності композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду, що включає готування дослідних та контрольних зразків мікроорганізмів, при цьому дослідні зразки готують послідовно з добових культур мікроорганізмів культивуванням їх на скошеному щільному середовищі протягом 18-24 годин при 37 °С з наступним отриманням бактеріальних та грибкових суспензій згідно зі стандартом мутності 0,5 по МакФарланду, при їх розведенні 1:5 отримують дослідні суспензії мікроорганізмів, одночасно з дослідними готують зразки позитивного контролю росту мікроорганізмів на поживному середовищі - без додавання композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду, зразки негативного контролю росту мікроорганізмів, які готують на поживному середовищі з додаванням робочих суспензій досліджуваних мікроорганізмів з витримкою протягом 24 годин при 4 °С без внесення дослідного композиту, та зразки контролю чистоти середовища і препаратів, результати яких порівнюють з ростом мікроорганізмів дослідних зразків, визначають мінімальну пригнічуючу концентрацію препарату по відношенню до досліджуваного мікроорганізму як першу концентрацію, при якій відсутній видимий ріст мікроорганізмів, а мінімальну бактерицидну та фунгіцидну концентрацію препарату по відношенню до досліджуваного мікроорганізму визначають за першою концентрацією, при якій у нанесених на щільне середовище бактеріальних та грибкових суспензіях виявлений ріст менше 200 колонієутворюючих одиниць. Пат. на корисну модель 124890 Україна, МПК G01N 33/15(2006.01), G01N 1/28(2006.01). СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ КОМПОЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ ТА ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ / Автори: Чекман Іван Сергійович (UA); Балко Олександр Богданович (UA); Воронін Євген Пилипович (UA); Дорошенко Анна Ігорівна (UA); Дорошенко Андрій Михайлович (UA); заявник та патентовласник: НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ, 01601 (UA). - № u201711216; Заявл. 16.11.2017; Опубл. 25.04.2018, бюл. № 8/2018.

В основу корисної моделі поставлена задача вивчення бактерицидної чутливості музейних штамів мікроорганізмів *S. aureus*, *S. Epidermidis*, *E. coli*, *S. faecalis*, *M. Luteus* до екстракту протейфлазиду.

Поставлена задача вирішується створенням способу визначення антибактеріальної активності екстракту протейфлазиду, що включає готування дослідних та контрольних зразків мікроорганізмів, згідно з корисною моделлю, для антибактеріальної дії використовують робочий розчин протейфлазиду в кількості 1,0 см<sup>3</sup>, що містить не менше 0,32 мг флавоноїдів в перерахунку на рутин і не менше 0,3 мг суми карбонових кислот в перерахунку на яблучну кислоту, який за допомогою мікропіпетки зі стерильним наконечником вносять в першу пробірку, що містить 1,0 см<sup>3</sup> бульйону, ретельно перемішують і новим стерильним наконечником переносять 1,0 см<sup>3</sup> розчину в бульйоні в наступну пробірку з 1,0 см<sup>3</sup> бульйону, повторюючи процедуру для приготування всього необхідного ряду розведень. Для інокуляції використовують мікробну суспензію, еквівалентну 1,0 за стандартом МакФарланда, розведену в 100 разів у фізіологічному розчині, після чого концентрація мікроорганізмів в ній становить 3×10 КУО/см<sup>3</sup>, по 0,1 см<sup>3</sup> інокулюма вносять в кожну пробірку, що містить по 1,0 см<sup>3</sup> відповідних розведень робочого розчину, і в одну пробірку з 1,0 см<sup>3</sup> поживного бульйону без екстракту, як "негативний контроль", далі пробірки закривають стерильними пробками і інкубують в звичайній атмосфері при температурі 37 °С протягом 20-24 год. з подальшим визначенням мінімальної концентрації протейфлазиду шляхом посіву мікроорганізмів з поживного бульйону на поживний агар, далі посіви інкубують в звичайній атмосфері при температурі 35 °С протягом 20-24 год.

Спосіб здійснюється наступним чином: в розчині 1 мл протейфлазиду знаходиться екстракт (1:1), що містить не менше 0,32 мг флавоноїдів в перерахунку на рутин і не менше 0,3 мг суми карбонових кислот в перерахунку на яблучну кислоту; допоміжна речовина - спирт етиловий 96 %. Робочий розчин в кількості 1,0 см<sup>3</sup> за допомогою мікропіпетки зі стерильним наконечником вносять в першу пробірку, що містить 1,0 см<sup>3</sup> бульйону. Ретельно перемішують і новим стерильним наконечником переносять 1,0 см<sup>3</sup> розчину в бульйоні в наступну пробірку з 1,0 см<sup>3</sup> бульйону. Цю процедуру повторюють для приготування всього необхідного ряду розведень. З останньої пробірки 1,0 см<sup>3</sup> бульйону видаляють. Таким чином, отримують ряд пробірок з розчинами протейфлазиду, концентрації яких відрізняються в сусідніх пробірках в 2 рази.

Для інокуляції використовують мікробну суспензію, еквівалентну 1,0 за стандартом МакФарланда, розведену в 100 разів у фізіологічному розчині, після чого концентрація мікроорганізмів в ній становить 3×10<sup>10</sup> КУО/см<sup>3</sup>. По 0,1 см інокулюма вносять в кожну пробірку,

що містить по 1,0 см<sup>3</sup> відповідних розведень робочого розчину, і в одну пробірку з 1,0 см<sup>3</sup> поживного бульйону без екстракту, як "негативний контроль". Інокулюм вносять в пробірки з розведеннями одразу після приготування.

5 Пробірки закривають стерильними пробками і інкубують в звичайній атмосфері при температурі 37 °С протягом 20-24 год. Бактерицидна мінімальна концентрація протекфлазиду визначається шляхом посіву мікроорганізмів з поживного бульйону на поживний агар виробництва Державного дослідного підприємства Інституту продовольчих ресурсів НААН України. Посіви інкубують в звичайній атмосфері при температурі 35 °С протягом 20-24 год. Для визначення наявності росту мікроорганізму пробірки з посівами не переглядають у світлі, що проходить, в порівнянні з "негативним" контролем, оскільки при змішуванні поживного бульйону та розчину, що містить флавоноїди, утворюється помутніння. Враховуючи цей факт, визначається виключно бактерицидна мінімальна концентрація (МБК) та мінімальна фунгіцидна концентрація (МФК) протекфлазиду, шляхом посіву мікроорганізмів з поживного бульйону на поживний агар.

15 У результаті, усі еталонні штами мікроорганізмів виявляються чутливими до дії екстракту протекфлазиду у різній мірі (креслення: МБК та МФД екстракту протекфлазиду для музейних штамів мікроорганізмів (n=5)).

20 Так, бактерицидна дія екстракту протекфлазиду на музейну культуру *E.coli* визначається у концентрації флавоноїдів 0,19 мкг/мл. Грампозитивні мікроорганізми виявилися більш стійкими до означеного екстракту, оскільки мінімальна бактерицидна концентрація флавоноїдів щодо *St. fecalis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *S. epidermidis* майже не відрізнялась і становила в середньому 0,08 мкг/мл.

25 Отримані дані розширяють уявлення про чутливість еталонних штамів мікроорганізмів *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *St. faecalis*, *M. luteus* до дії екстракту протекфлазиду. Тому використання отриманих результатів в медицині та пошук нових препаратів на основі флавоноїдів є досить перспективним для подальших досліджень. Оскільки при використанні екстракту протекфлазиду у комплексній терапії вірусних інфекцій може попереджувати розвиток вторинної бактеріальної інфекції.

Джерела інформації:

30 1. Богоявленский А.П. Противовирусные препараты растительного происхождения / А.П. Богоявленский, А.С. Турмагамбетова, В.Э. Березин // Биологические науки. Фундаментальные исследования. - 2013. - № 6. - С. 1141-1145.

35 2. Вовк И.Б. Использование флавоноидов в комплексном лечении женщин с воспалительными заболеваниями гениталий вирусно-бактериальной этиологии / И.Б. Вовк, О.О. Ревенько, О.И. Данилюк // Здоровье женщины. - 2002. - № 4 (12), - С. 43-45.

3. Годлевська Н.А. Ефективність системного та місцевого застосування препарату Протекфлазид у лікуванні патології шийки матки, спричненої папіломатозною інфекцією / Н.А. Годлевська, А.В. Старовір // Здоровье женщины. - 2012, - № 3 (69). - С. 155-159.

40 4. Оценка эффективности препарата Протекфлазид при лечении папилломавирусной инфекции: мета-анализ результатов многолетних клинических исследований / В.В. Каминский, М.Н. Шалько, В.С. Михайлов [и др.] // Медицинские аспекты здоровья женщины. 2015. № 6 (92). - С. 5-14.

45 5. Протекфлазид: специфическая активность в отношении вируса гепатита С в доклинических исследованиях; эффективность и безопасность при лечении гепатитов В и С в клинической практике (систематический обзор) / А.Н. Печенка, А.И. Гриневич, Т.А. Кручко [и др.] // Клиническая инфектология и паразитология. - 2015. - № 2 (13). - С. 78-97.

6. Протигрипозний ефект N-стеароїлетаноламіну / Н.М. Гула, А.А. Чумак. С.Л. Рибалко, Д.Б. Старосила [та ін.] // Журнал національної академії медичних наук України. - 2014. - Т. 20, № 4. - С. 393-401.

50 7. Balunas M. J. Drug discovery from medicinal plants / M.J. Balunas, A.D. Kinghorn // Life Sci. - 2005. - Vol. 78. - P. 431-441.

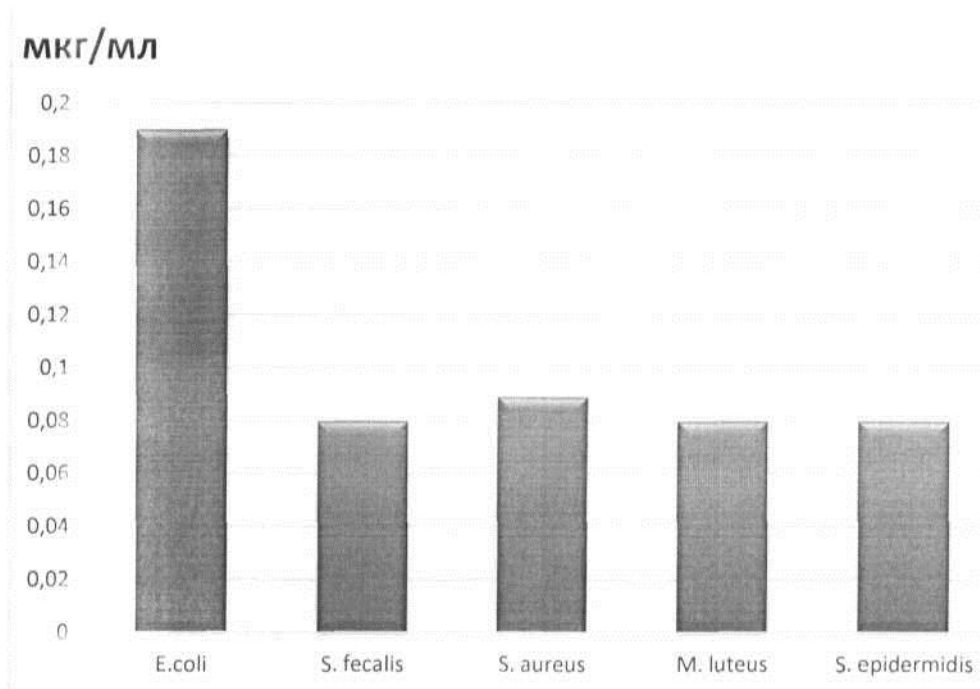
8. Global trends in emerging infectious diseases / K.E. Jones, N.G. Patel, M.A. Levy [et al.] // Nature. - 2008. - Vol. 451, № 71. - P. 990-993.

## 55 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб визначення антибактеріальної активності екстракту протекфлазиду, що включає готування дослідних та контрольних зразків мікроорганізмів, який **відрізняється** тим, що для антибактеріальної дії використовують робочий розчин протекфлазиду в кількості 1,0 см<sup>3</sup>, що містить не менше 0,32 мг флавоноїдів в перерахунку на рутин і не менше 0,3 мг суми

карбовоних кислот в перерахунку на яблучну кислоту, який за допомогою мікропіпетки зі стерильним наконечником вносять в першу пробірку, що містить 1,0 см<sup>3</sup> бульйону, ретельно перемішують і новим стерильним наконечником переносять 1,0 см<sup>3</sup> розчину в бульйоні в наступну пробірку з 1,0 см<sup>3</sup> бульйону, повторюючи процедуру для приготування всього необхідного ряду розведень.

5 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що для інокуляції використовують мікробну суспензію, еквівалентну 1,0 за стандартом МакФарланда, розведену в 100 разів у фізіологічному розчині, після чого концентрація мікроорганізмів в ній становить  $3 \times 10^{10}$  КУО/см<sup>3</sup>, по 0,1 см<sup>3</sup> інокулюма вносять в кожен пробірку, що містить по 1,0 см<sup>3</sup> відповідних розведень робочого розчину, і в одну пробірку з 1,0 см<sup>3</sup> поживного бульйону без екстракту, як "негативний контроль", далі пробірки закривають стерильними пробками і інкубують в звичайній атмосфері при температурі 37 °С протягом 20-24 год. з подальшим визначенням мінімальної концентрації протектази шляхом посіву мікроорганізмів з поживного бульйону на поживний агар, далі посіви інкубують в звичайній атмосфері при температурі 35 °С протягом 20-24 год.




---

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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