



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **23879** (13) **U**
(51) **МПК (2006)**
A61K 36/00
G01N 30/02 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

видається під
відповідальність
власника
патенту

**(54) ПРОЦЕС ОДЕРЖАННЯ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСУ З БО-
ЛИГОЛОВА ПЛЯМИСТОГО**

1

(21) u200700913

(22) 29.01.2007

(24) 11.06.2007

(46) 11.06.2007, Бюл. № 8, 2007 р.

(72) Малиновський Юрій Юрійович, Чушенко Ва-
лентина Миколаївна, Бондар Володимир Степано-
вич

(73) Малиновський Юрій Юрійович, Чушенко Ва-
лентина Миколаївна, Бондар Володимир Степано-
вич

(57) Процес одержання та кількісного визначення
полісахаридного комплексу з болиголова плями-
стого шляхом екстракції повітряно-сухої, подрібне-
ної надземної частини болиголова плямистого,
концентрування водної витяжки, осадження полі-
сахаридного комплексу, відділення фільтрату, йо-
го промивання й висушування цільового продукту,
визначення кількісного вмісту полісахаридів, вста-
новлення якісного та кількісного співвідношення

2

моносахаридного складу, який **відрізняється** тим,
що екстракцію проводять водою при співвідно-
шенні сировина:вода 1:1, при температурі до 95°C,
постійно помішуючи протягом 1 години, рослинний
матеріал відокремлюють центрифугуванням, об'-
єднані екстракти упарюють до 1/5 первинного об-
сягу вихідної сировини, полісахаридний комплекс
осаджують 96% етанолом при кімнатній темпера-
турі в співвідношенні 3:1, твердий осад, який ви-
пав, відфільтровують, промивають 96% етанолом,
ацетоном, потім висушують та зважують, визна-
чення кількісного вмісту полісахаридів визначають
гравіметричним методом після фракціонування
95% спиртом, для встановлення моносахаридного
складу проводять гідроліз полісахаридів кислотою
сульфатною (1 моль/л) при температурі 100±2,5°C,
ідентифікацію моносахаридів у гідролізатах про-
водять методами паперової, тонкошарової та га-
зорідинної хроматографії.

Корисна модель відноситься до хіміко - фар-
мацевтичної промисловості, а саме до способу
одержання полісахаридного комплексу болиголова
плямистого. В останній час біологічно активні полі-
сахариди рослин знаходять застосування в меди-
чиній практиці для профілактики та лікування за-
хворювань, у патогенезі яких велику роль відіграє
рівень функціонального стану імунної системи.

Болиголов плямистий народна медицина за-
стосовує як болезастойливий, протисудомний та
кровоспинний засіб, для лікування раку молочної
залози і фіброми матки, для регуляції менструаль-
ного циклу, при недовір'ї, судомному кашлі, силь-
них болях у шлунку та кишечнику, при закріпах,
затриманні сечі та полюціях.

Відомий спосіб одержання плантаглюциду
[Технология лекарственных форм/ Под ред.
А.А.Ивановой. - М.: Медицина, 1991, т.2, с.440.],
що полягає в тім, що подрібнене сухе листя подо-
рожника завантажують в екстрактор з водою в
співвідношенні 1:10, кип'ятять 20-25 хвилин, на-
стоюють 3-4 години. Водний екстракт фільтрують,

упарюють у плівковому випарувальному апараті
до 1/10 первісного обсягу при температурі 60-
75°C. Додають трикратну кількість етанолу для
осадження полісахаридного комплексу, осад відо-
кремлюють віджиманням на фільтрі під тиском,
висушують під вакуумом при температурі 50-60°C
до змісту вологи не більше 10% гранулюють.

Також відомий спосіб одержання соку подоро-
жника зі свіжого листя подорожника великого й
трави подорожника (у співвідношенні 1:1) шляхом
віджиму й добавки консервантів [Технология ле-
карственных форм/ Под ред. А.А.Ивановой. - М:
Медицина, 1991, т.2, с.438].

Однак дані способи мають наступні недоліки: у
виробництві плантаглюциду з сухого листя подо-
рожника низькомолекулярні компоненти подорож-
ника губляться. У той же час при одержанні соку
подорожника зі свіжої сировини відбувається втра-
та полісахаридів плантаглюцида.

Відомий спосіб за з.№2003103888 [RU,
G01N33/48, від 2004.08.20 „Способ определения
содержания гибберелловой кислоты в тканях рас-

(13) **U**

(11) **23879**

(19) **UA**

тений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии"], що складається з екстракції речовини з рослинного матеріалу, очищення й кількісне визначення речовини, кількісне визначення змісту гіббереллової кислоти здійснюють за допомогою високоефективної рідинної хроматографії.

Відомий спосіб по пат. №2168170 [RU, G01N33/48, „Способ хроматографического определения полисахаридов в водной среде“].

Найбільш близьким до передбачуваної корисної моделі по технічній сутності й досягається результату, що, є пат. №2082168 [RU G01N33/50, от 1997.06.20 „Способ обнаружения и количественного определения эдистероидов в растительных объектах“], аналіз здійснюють шляхом тонкошарової високоефективної рідинної або газорідинної хроматографії.

Недоліками цього способу є: трудомісткість підготовки сировини до аналізу; необхідність готування скляних пластинок і труднощі відтворення однорідності поверхні, що позначається на результатах аналізу; виявлення етанолу розчином ваніліну в сірчаній кислоті; велика витрата розчинників при хроматографуванні.

В основу корисної моделі поставлене завдання спростити процес отримання полісахаридів з рослинної сировини, та скоротити термін якісного одержання та кількісного визначення полісахаридів.

Поставлено завдання досягається тим, що повітряно - суху, подрібнену надземну частину боліголовка плямистого екстрагують водою, причому екстракцію ведуть при температурі води до 95°C, у співвідношенні сировина екстрагент 1:1 на протязі 1 години при постійному змішуванні, рослинний матеріал відокремлюють центрифугуванням, а об'єднані екстракти упарюють до 1/5 первинного об'єму, полісахаридний комплекс осаджують 96% етанолом при кімнатній температурі в співвідношенні 3:1, твердий осад, який випав, відфільтровують, промивають 96% етанолом, ацетоном, потім висушують та зважують, визначення кількісного вмісту полісахаридів визначають гравіметричним методом після фракціонування 95% спиртом, для встановлення моносахаридного складу проводять гідроліз полісахаридів кислоту сульфатною (1моль/л) при температурі (100±2,5)°C, ідентифікацію моносахаридів у гідролізатах проводять методами паперової, тонкошарової та газорідинної хроматографії.

Відмінність запропонованого способу від відомого полягає в тому, що екстракцію ведуть при температурі води до 100°C і співвідношенні сировинна - екстрагент 1:1, водний витяжка концентрують до 1/5 обсягу вихідної сировини при кімнатній температурі, потім полісахаридний комплекс відокремлюють шляхом осадження 96% етанолом у співвідношенні 3:1, фільтрат упарюють до густоти залишку зі змістом води, твердий осад, який випав, відфільтровують, промивають 96% етанолом, ацетоном.

Порівняння технічного рішення, що заявляється, з відомими показує, що вперше підібрано оптимальні режими одержання субстанції з високою протипухлинною, імуномодуючою, протівірус-

ною, протиалергійною та цукрознижуючою дією та активністю.

Корисна модель пояснюється прикладами 1-5.

Приклад 1. Запропонований процес одержання полісахаридного комплексу здійснюють наступним чином.

- повітряно - суху, подрібнену надземну частину рослини екстрагують водою, нагріваючи до 95°C на протязі 1 години при постійному змішуванні;

- повторне витяжкаання полісахаридів проводили двічі при співвідношенні сировина-екстрагент (1:1);

- рослинний матеріал відокремлювали центрифугуванням, а об'єднані екстракти упарювали до 1/5 первинного об'єму;

- полісахаридний комплекс відокремлюють шляхом осадження 95% етанолом у співвідношенні 3:1 при кімнатній температурі;

- твердий осад, який випав, відфільтровували, промивали 96% етанолом, ацетоном;

- потім висушували та зважували.

Полісахаридний комплекс представляє собою аморфний порошок, темно - коричневого кольору при розчиненні у воді утворюється опалесцентний розчин.

Таким чином, запропонований процес економічно доступний, забезпечує при наявності необхідного виробничого встаткування комплексну переробку рослинної сировини в короткий відрізок часу без втрати біологічно активних речовин.

Полісахаридний комплекс дає позитивні реакції осадження зі спиртом та ацетоном, з розчином Фелінга у кислому середовищі. Кількісний вміст полісахаридів визначали гравіметричним методом після фракціонування 95% спиртом.

Приклад 2. Полісахаридний комплекс отримують, як описано в прикладі 1, а для визначення моносахаридного складу проводили гідроліз полісахаридів кислоту сульфатною (1моль/л) при температурі (100±2,5)°C. Кінетику гідролізу вивчали експериментально.

Ідентифікацію моносахаридів у гідролізатах проводили методами хроматографії на папері у системах: бутанол – піридин - вода (6:4:3) та етилацетат - кислота оцтова кислота мурашина - вода (18:3:1:4), хроматографії у тонкому шарі сорбенту на силкагелі у системі: етилацетат - піридин - вода - спирт бутиловий - кислота оцтова (5:4:4:10:2), паралельно з достовірними зразками. Хроматограми після висушування на повітрі обробляли анілінфталатним реактивом та нагрівали у сухо повітряній шафі при температурі (100±2,5)°C. Через 15 хвилин спостерігали наявність плям моносахаридів: глюкози, галактози, рамнози, які були забарвлені у коричневий колір та ксилози і по мономерному складу методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту дозволили арабінози - забарвлених у рожевий колір.

Результати дослідження по мономерному складу методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту дозволили підтвердити дані, отримані методом хроматографії на папері.

Приклад 3. Методами хроматографії на папері та в тонкому шарі сорбенту паралельно з достовірними зразками моносахаридів в гідролізатах по-

лісахаридного комплексу болиголова були ідентифіковані в нейтральній фракції слідує моносахариди: глюкоза, галактоза, арабіноза, ксилоза, рамноза, а в кислій фракції - галактуриноза та глюкуроноза. По величині плям на хроматограмах та інтенсивності їх забарвлення, за попередньою оцінкою, основними по вмісту є арабіноза та галактоза, а також галактуриноза та глюкуроноза кислоти.

Для визначення співвідношення моносахаридів в досліджуваних гідролізатах нейтральної фракції були отримані ацетати поліолів достовірних зразків моносахаридів (глюкоза, галактоза, арабіноза, ксилоза та рамноза) та ацетати поліолів моносахаридів у досліджуваних гідролізатах. Ці сполуки були ідентифіковані методом газорідної хроматографії.

Приклад 4. Проведено визначення мінеральної частки комплексу. Вміст її складає близько 29,8% і вона представлена слідує катіонами та аніонами: кальцій, магній, марганець, цинк, фосфат, хлорид, сульфат.

Приклад 5. Вміст суми відновлюючих моносахаридів визначали спектрофотометричним методом з пікриновою кислотою у лужному середовищі. В якості стандартного зразка використовували

галактозу.

Приклад 6. Кількісний вміст кислих моносахаридів визначали спектрофотометричним методом, в основу якого покладений карабазольний метод. У якості стандартного зразка використовували галактуринозу кислоту. Результати аналізів представлені в Таблиці.

Таким чином, з надземної частини болиголова плямистого виділений та охарактеризований водорозчинний полісахаридний комплекс, який складається, в основному, з галактуринової кислоти, галактози, арабінози з окремими включеннями глюкози, рамнози та ксилози. Це дозволяє віднести досліджуваний полісахаридний комплекс до групи глюкуроногліканів, які в останній час, як природні біополімери стали об'єктом дослідження у всьому світі завдяки своїм протипухлинним, імуномодулюючим, протівірусним, протиалергічним, цукрознижуючим та іншим цінним лікувальним ефектам.

Досліджуваний полісахаридний комплекс може бути використаний для створення препаратів, які володіють протипухлинною, імуномодулюючою, протівірусною, протиалергічною та цукрознижуючою дією.

Таблиця

Полісахаридний комплекс болиголова	Вихід, %	моль %	Співвідношення	Ar	моносахари	Rha	Вміст кислих моносахаридів, %	Вміст суми відновлюючих моносахаридів, %
		Glu	Gal		Kc			
	17,15±0,34	15	43	23	10	9	8,15±0,16	10,21±0,25