



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41203 (13) U
(51) МПК (2009)
A61K 36/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ СУБСТАНЦІЇ ІЗ ТРАВИ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО

1

2

(21) u200814366

(22) 15.12.2008

(24) 12.05.2009

(46) 12.05.2009, Бюл.№ 9, 2009 р.

(72) КАЛУШКА ОЛЕНА БОГДАНІВНА, UA, МАР-
ЧИШИН СВІТЛАНА МИХАЙЛІВНА, UA(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО, UA(57) Спосіб отримання фармакологічно активної
субстанції із трави пирію повзучого (Agorugon

gerens L.), що включає технологічний етап екстрагування, який **відрізняється** тим, що з подрібненої трави пирію повзучого спочатку екстрагують біологічно активні речовини 70% етиловим спиртом, відокремлений шрот двічі піддають екстрагуванню підігрітою до 96-100°C водою, а отримані екстракти змішують зі спиртовим з подальшим упарюванням суміші до вмісту сухого залишку не менше 20%.

Корисна модель стосується фармації, зокрема способів отримання фармакологічно активної субстанції з лікарської сировини, а саме з трави пирію повзучого (Agorugon gerens L.), комплексу фенольних сполук (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини) із вираженою протизапальною і гепатопротекторною активністю для використання їх в якості діючої речовини лікарських засобів протизапальної і гепатопротекторної дії.

Відомий спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною активністю, зокрема пирію повзучого, що включає технологічний етап екстрагування біологічно активних речовин з сировини дистильованою водою [1].

Відомий спосіб характеризується недостатнім рівнем технологічності, що впливає із обмеження його лише станом водного екстрагування. В силу чого, розчинні в спирті компоненти не потрапляють в отриманий екстракт. Наведене обумовлює недостатній спектр фармакологічної активності.

В основу корисної моделі поставлене завдання розробки способу отримання рослинної субстанції з протизапальною та гепатопротекторною активністю шляхом спиртово-водного екстрагування з рослинної сировини трави пирію повзучого біологічно активних речовин, які мають протизапальну і гепатопротекторну дію.

При вирішенні технічного завдання були взяті до уваги результати попередніх досліджень, які показали, що трава пирію повзучого містить біологічно активні речовини: флавоноїди, дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти, каротиноїди, ефірні олії, амінокислоти, органічні кислоти, які характеризуються протизапальними та гепатопротекторними властивостями, а отриманий спиртово-водний екстракт трави пирію повзучого (ЕТПП) у вигляді густої субстанції є перспективним для використання в якості протизапального і гепатопротекторного засобу [2,3].

Виходячи з наведеного, у відомому способі отримання фармакологічно активної субстанції із трави пирію повзучого (Agorugon gerens L.), що включає технологічний етап екстрагування, відповідно до корисної моделі з подрібненої трави пирію повзучого спочатку екстрагують біологічно активні речовини 70% етиловим спиртом, відокремлений шрот двічі піддають екстрагуванню підігрітою до 96-100°C водою, а отримані екстракти змішують зі спиртовим з подальшим упарюванням суміші до вмісту сухого залишку не менше 20%.

Спосіб здійснюють наступним чином. Подрібнену суху рослинну сировину (траву пирію повзучого) спочатку екстрагують 70% етиловим спиртом впродовж 24 годин. Спиртовий екстракт зливають, шрот віджимають. Відокремлений шрот двічі піддають екстрагуванню підігрітою до 96-100°C водою, а отримані екстракти змішують зі спиртовим з подальшим упарюванням суміші до вмісту сухого залишку не менше 20%.

Отримана субстанція - це густий розчин темно-зеленого кольору, солодкуватий на смак, з приємним специфічним запахом, який розчиняється у воді, у спирт утворює осад. Ця субстанція є нерозчинною у неполярних розчинниках.

Приклад 1.

100г трави пирію повзучого подрібнювали до розміру часток 2-3мм і впродовж 24 годин екстрагували 2300мл 70% етиловим спиртом. Осад відфільтрували, а шрот двічі екстрагували впродовж

(19) UA (11) 41203 (13) U

2год. 1500мл дистильованої води, підігрітою до 96-100°C. Отриманий густий екстракт солодкий на смак, з приємним специфічним запахом. Розчинний у воді, у спирті утворює осад, нерозчинний у неполярних розчинниках. В отриманому екстракті вміст сухого залишку становить 23%.

Приклад 2.

З метою визначення протизапальної активності екстракту проведено експериментальні дослідження на 66 щурах масою 180-220г. Досліджуваних тварин поділили на 11 груп (по 6 тварин у кожній групі):

- 1-а група - контрольна патологія (неліковані тварини із запаленням лапи, викликаним карагеніном);

- 2-а, 3-я, і 4-а групи - дослідні тварини, яким перед моделюванням запалення вводили 7% водний ЕТПП у дозах 50, 100, 150мг/кг;

- 5-а, 6-а і 7-а групи - тварини, які отримували 8,8% спиртовий ЕТПП у дозах 50, 100, 150мг/кг;

- 8-а, 9-а і 10-а групи - тварини, які перед введенням карагеніну отримували 9,9% спиртово-водний ЕТПП у дозах 50, 100, 150мг/кг;

- 11-а група - тварини, яким вводили препарат порівняння - ортофен-3Т у дозі 8мг/кг.

Розвиток набряку оцінювали за збільшенням товщини лапи, яку вимірювали за допомогою механічного онкометра у динаміці через 1, 2, 3, 4 та 6 годин після введення карагеніну [4]. Протизапальну активність оцінювали за ступенем зменшення набряку лапи у тварин, що отримували екстракти, у порівнянні з тваринами групи позитивного контролю.

За результатами вивчення протизапальних властивостей екстрактів для подальшого дослідження був обраний спиртово-водний 9,9% ЕТПП, як найактивніший за антиексудативною дією.

Результати дослідів наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Умови дослідів	Доза, мг/кг	Товщина лапи, $\Delta W(\bar{X})$ (min-max), ум.од. через ...год.					
		1 год.	2 год.	3 год.	4 год.	5 год.	Середня А, %
Контрольна патологія	-	11,63 (24-6)	18,13 (11-34)	23,25 (13-39)	27,50 (15-41)	23,13 (15-39)	-
Водний ЕТПП, 7%	50	9,20 (7-14)	16,60 (13-24)	18,80 (14-25)	17,60# (14-23)	14,60* (12-21)	24
	100	12,20 (7-18)	24,60 (19-29)	28,00 (21-34)	27,20 (17-34)	22,00 (14-28)	-
	150	12,00 (2-13)	20,4 (10-31)	21,2 (10-32)	21,60 (15-28)	15,20# (5-25)	10
Спиртовий ЕТПП, 8,8%	50	12,00 (9-16)	22,20 (18-27)	26,00 (21-32)	25,40 (22-30)	22,60 (18-27)	-
	100	9,00 (4-18)	12,00 (6-20)	15,00# (9-23)	15,40* (9-15)	15,40# (13-18)	34
	150	12,80 (10-17)	17,00 (12-23)	20,40 (18-26)	20,20 (15-25)	17,80 (14-21)	12
Спиртово-водний ЕТПП, 9,9%	50	10,00 (10-11)	12,80 (7-20)	11,40* (4-23)	13,40* (10-16)	10,80* (7-17)	40
	100	13,80 (13-15)	23,40 (20-26)	19,60 (16-27)	22,40 (17-31)	20,80 (15-28)	-
	150	9,20 (5-13)	14,00 (11-21)	12,40# (6-29)	15,00* (10-24)	15,60* (9-23)	34
Ортофен-3Т	8	7,50 (6-10)	7,25* (5-10)	8,75* (2-12)	12,13* (7-19)	12,00* (9-16)	57

Примітки:

1. * - відмінності достовірні відносно контрольної патології, $p < 0,05$;

2. # - тенденція відмінностей до достовірних відносно контрольної патології, $p < 0,1$

Оцінка одержаних результатів показує, що екстракт трави пірію повзучого має виражену протизапальну активність щодо карагенінового набряку. Дані із використання екстракту трави пірію повзучого в дозах 50, 100 і 150мг/кг свідчать про наявність протизапальної активності різного ступеня вираженості, яка знаходиться в межах 34-40%. Найбільш вираженою є протизапальна активність екстракту трави пірію повзучого в дозі 50мг/кг і складає 40%.

Приклад 3.

З метою визначення гепатопротекторної активності проведено експериментальні дослідження на 42 щурах масою 160-220г, у яких викликали гострий гепатит одноразовим внутрішньошлунковим введенням 50% олійного розчину тетрафлорметану з розрахунку 0,7мл на кг маси тіла [5]. Тварини були поділені на 6 груп (по 7 тварин у кожній групі) [табл. 2]:

- 1-а група - інтактний контроль;

- 2-а група - контрольна патологія;

- 3-я група - тварини, які отримували 9,9% спиртово-водний ЕТПП у дозі 50мг/кг;
 - 4-а група - тварини, які отримували 9,9% спиртово-водний ЕТПП у дозі 100мг/кг;
 - 5-а група - тварини, які отримували 9,9% спиртово-водний ЕТПП у дозі 150мг/кг;
 - 6-а група - тварини, які отримували препарат порівняння (таблетки силібору у дозі 100 мг/кг).

Екстракт трави пирію повзучого вводили внутрішньошлунково за одну годину до введення гепатотоксину, та через 1 годину після нього. Як пре-

парат порівняння використовували вітчизняний гепатопротекторний засіб рослинного походження з антиоксидантними властивостями - таблетки силібору у дозі 100мг/кг, який вводили в аналогічному режимі. Контрольним тваринам вводили еквівалентну їх масі кількість води в аналогічному режимі введення. Гепатопротекторну активність готового препарату оцінювали за біохімічними показниками крові та масовим коефіцієнтом печінки, за традиційними методами [4,5].

Результати дослідів наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

Дослідження гепатопротекторної активності спиртово-водного екстракту трави пирію повзучого на моделі гострого ураження печінки тетрахлорметаном (n=7)

Показник	Умови дослідів					
	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
КМП	2,87±0,13	3,87±0,11*	4,18±0,18* ^{***}	3,36±0,19**	3,33±0,15**	3,24±0,17**
У гомогенатах печінки						
ТБК-реактанти, мкмоль/г	77,10±12,24	130,40±12,56*	58,06±9,26**	80,03±6,35**	60,44±7,21**	85,71±5,26**
Відновлений глутатіон, мкмоль/г	2,90±0,22	2,24±0,16	5,82±0,90* ^{**}	3,43±0,95 ^{0,09КП}	4,57±0,59**	4,33±0,55**
У сироватці крові						
АлАТ, ммоль/л	0,89±0,05	1,79±0,01*	1,74±0,03*	1,78±0,01*	1,52±0,09* ^{***}	1,33±0,14**/*
Холестерин, ммоль/л	1,74±0,42	3,99±0,48*	2,4±0,18**	2,96±0,28 ^{0,09КП}	3,57±0,51*	3,33±0,36*
Загальний білок, г/л	86,63±3,08	78,17±3,61	87,90±2,44	90,18±3,04	102,30±6,61 ^{0,065К}	85,18±5,46
Фібриноген, г/л	1,33±0,08	0,073±0,09*	1,01±0,10 ^{0,01К}	1,22±0,21**	1,32±0,13**	1,49±0,09**

Примітки:

1. * - відмінності достовірні щодо значень інтактного контролю, p<0,05;
2. ** - відмінності достовірні щодо значень контрольної патології, p<0,05
3. *** - відмінності достовірні щодо значень дослідних груп, p<0,05;
4. ІК, ПК- тенденція змін до статистичної достовірності щодо значень інтактного контролю або контрольної патології, p<0,1
5. n- кількість тварин у кожній групі.

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, найбільшу гепатопротекторну дію екстракт виявляє при застосуванні у дозі 150мг/кг.

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує отримання біологічно активних речовин з сухої сировини - трави пирію повзучого - у вигляді екстракту із вираженою протизапальною і гепатопротекторною активністю і може бути використаний у промисловому виробництві лікарських препаратів на основі рослинної сировини, як засобу з проти-запальною та гепатопротекторною дією.

Джерела інформації:

1. Патент 7213 У. Україна, МПК А61К35/78. Спосіб отримання фармакологічно активної субстанції з рослинної сировини / С.М. Марчишин, Л.В. Яковлева, С.М. Дроговоз, М.М. Тимченко. - № 20041108899; Заявлено 01.11.2004; Опубл. 15.06.2005, Бюл. №6.

2. Калушка О. Б., Марчишин С. М. Вивчення біологічно активних речовин пирію повзучого //

Матеріали всеукраїнського конгресу "Сьогодення та майбутнє фармації". Харків. 16-19 квітня 2008р. - Харків, 2008. - С.137.

3. Марчишин С.М., Калушка О.Б. Вивчення амінокислотного та елементного складу пирію повзучого //Фармацевтичний журнал. - №1. -2006.-С 83-85.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - С.292-306.

5. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств (издание официальное) / С.М. Дроговоз, СИ.Сальникова Н.П.Скакун и др.- Киев: ФКМЗ Украины, 1994.-46с.

