



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **41976** (13) **U**
(51) МПК (2009)
A61K 36/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЕКСТРАКТУ З КОРЕНІВ ГАДЮЧНИКА ШЕСТИПЕЛЮСТКОВОГО З ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ ДІЄЮ

1

2

(21) u200810973

(22) 08.09.2008

(24) 25.06.2009

(46) 25.06.2009, Бюл.№ 12, 2009 р.

(72) СТРУК ОКСАНА АНАТОЛІЇВНА, ГРИЦИК АНДРІЙ РОМАНОВИЧ, КЛИМЕНКО АНАТОЛІЙ ОЛЕКСІЙОВИЧ

(73) СТРУК ОКСАНА АНАТОЛІЇВНА, ГРИЦИК АНДРІЙ РОМАНОВИЧ, КЛИМЕНКО АНАТОЛІЙ ОЛЕКСІЙОВИЧ

(57) Спосіб одержання екстракту з коренів гадючника шестипелюсткового з гепатопротекторною активністю, що включає використання коренів рослин і органічного екстрагенту, який **відрізняється** тим, що подрібнену сировину гадючника шестипелюсткового екстрагують 70% етиловим спиртом та водою, очищеною у співвідношенні 1:15 тричі, одержані витяжки об'єднують, фільтрують, еталон відганяють під вакуумом у роторному випарнику і висушують в апараті до залишкової вологості не більше 5 %.

Корисна модель відноситься до медицини і фармації, і стосується створення нового рослинного засобу, одержаного з коренів гадючника шестипелюсткового (*Filipendula hexapetala* Gilib.) з гепатозахисними властивостями.

Відомий спосіб одержання екстракту з трави тирличу ваточниковидного з гепатозахисною активністю [1].

До роду Гадючник *Filipendula* Gilib. родини розові *Rosaceae* належить близько 20 видів, що ростуть в Європі та на Кавказі. На території України проростає 3 види: гадючник (г.) шестипелюстковий, г. в'язолистий, г. голий. Рослини роду Гадючник на території України зустрічаються на сухих луках, у світлих лісах, в чагарниках, на узліссях, сухих лісових галявинах, часто в степовій та лісостеповій зонах [2, 3].

Гадючник шестипелюстковий використовується у науковій та народній медицині, як протизапальний, в'яжучий, сечогінний і кровозупинний засіб. Корінь входить до складу збору №1 для приготування мікстури за прописом Здренко (симптоматичний засіб для лікування папіломатозу сечового міхура і антацидних гастритів), а також при захворюванні серцево судинної системи, шлунково-кишкового тракту; для лікування онкологічних захворювань, проносу. Вся рослина використовується як складник зборів для лікування психічних розладів; як діуретичний, ранозагоювальний засіб, при злоякісних пухлинах, геморої. Трава - при захворюваннях нирок, шлунково-кишкового тракту,

болях голови. Листки - як діуретичний, в'яжучий засіб при геморої, грижі. Квіти - як фунгіцидний засіб [2, 3].

В основу корисної моделі поставлено завдання розширення спектру препаратів, які мають гепатозахисну активність, в яких у якості сировини використовують корені гадючника шестипелюсткового, забезпечується нова схема одержання екстракту, який має вищезгадані властивості і за рахунок чого одержаний екстракт можна використовувати при захворюваннях гепатобіліарної системи.

Поставлене завдання вирішується тим, що згідно зі способом одержання екстракту з коренів гадючника шестипелюсткового з гепатозахисною активністю, що включає використання коренів рослин і органічного екстрагенту, подрібнену сировину гадючника шестипелюсткового екстрагують 70 % етиловим спиртом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:15 тричі, одержані витяжки об'єднують, фільтрують, етанол відганяють під вакуумом у роторному випарнику і висушують до остаточної вологості не більше 5 %.

Винахідницький рівень забезпечується тим, що як сировина використовується корені гадючника шестипелюсткового і спосіб одержання є неочевидним.

Спосіб одержання екстракту з коренів гадючника шестипелюсткового здійснюється наступним чином. Для одержання екстракту з коренів гадючника шестипелюсткового 100,0 г подрібненої сирови-

(13) **U**
(11) **41976**
(19) **UA**

вини (розмір частинок 1-2 мм) екстрагували 1500 мл 70% етанолу в колбі із зворотнім холодильником на водяному огрівнику при температурі кипіння екстрагенту протягом 30 хв. Екстрагент проціджували, а залишок сировини екстрагували в аналогічних умовах ще 2 рази. Витяжки проціджували, фільтрати об'єднували, етанол відганяли під вакуумом у роторному випарнику і висушували. Одержаний екстракт являє собою коричнево-чоронувату пухку аморфну масу, гірко-смаку без запаху.

Одержаний екстракт умовно позначаємо ГШК-1.

За допомогою якісних реакцій і хроматографії в розчинах екстрактів виявлені дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти та фенольні сполуки.

Результати проведених досліджень з встановлення оптимальних умов одержання екстракту з коренів гадючника шестипелюсткового наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Оптимальні умови екстракції біологічно активних речовин з коренів гадючника шестипелюсткового

Показник		Вміст суми екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n=9
Розмір частинок	>2,5 мм	28,2±0,01
	2-2,5 мм	22,1±0,01
	1,5-2 мм	20,5±0,01
	1,02-1,5мм	19,8±0,03
	0,05-1,02мм	15,4±0,03
	0,25-0,5мм	13,3±0,02
	0,12-0,25мм	13,4±0,03
	0,08-0,12мм	10,6±0,03
Вид екстрагенту	30% етанол	7,9±0,03
	50% етанол	8,9±0,04
	70% етанол	10,7±0,01
	90% етанол	6,3±0,01
	96% етанол	5,1±0,02
	вода очищена	13,9±0,05
Час екстракції (екстрагент 70 % етанол)	15 хв.	9,3±0,04
	30 хв	11,5±0,01
	45 хв	10,2±0,06
	60 хв.	9,2±0,02
	90 хв.	7,4±0,01
Співвідношення сировина - екстрагент (екстрагент 70% етанол)	1:50	5,8±0,025
	1:10	8,8±0,02
	1:15	11,6±0,03
	1:20	9,9±0,03
	1:50	8,4±0,01
Кратність екстракцій (екстрагент 70 % етанол)	I	11,6±0,06
	II	1,8±0,04
	III	1,7±0,03
	IV	0,8±0,01

Концентрація спирту етилового 70 % вибрана тому, що дозволяє максимально екстрагувати діючі речовини; співвідношення сировина-екстрагент 1:15 тому, що нижче співвідношення не дозволяє максимально екстрагувати діючі речовини, а вище - є технологічно недоцільним.

Спосіб одержання екстракту з коренів гадючника шестипелюсткового ілюструється наступними прикладами.

Приклад 1. 200,0 г попередньо висушених і подрібнених до розміру частинок 1-2 коренів гадючника шестипелюсткового екстрагуємо 3000 мл 70 % етилового спирту в круглодонній колбі зі зворотнім холодильником при температурі кипіння екстрагенту протягом 30 хв. Сировину відтискаємо. Екстракцію проводимо ще 2 рази. Екстракти об'єднуємо, фільтруємо, етанол відганяємо під вакуумом у роторному випарнику. Екстракт висушуємо. Вихід сухого екстракту становить

24,7%, втрата в масі при висушуванні становить 1,6 %.

Приклад 2. 200,0 г попередньо висушених і подрібнених до розміру частинок 1-2 коренів гадючника шестипелюсткового екстрагуємо 3000 мл води очищеної в круглодонній колбі зі зворотнім холодильником при температурі кипіння екстрагенту протягом 30 хв. Сировину відтискаємо. Екстракцію проводимо ще 2 рази. Екстракти об'єднуємо, фільтруємо, етанол відганяємо під вакуумом у роторному випарнику. Екстракт висушуємо. Вихід сухого екстракту становить 23,96%, втрата в масі при висушуванні становить 1,8%.

Дослідження гепатозахисних властивостей. Дослідження проводили на 31 білому щурі-самцю масою 0,18-0,25 кг, розділених на 4 групи. Для відтворення гострого токсичного ураження печінки у тварин першої - третьої груп тетрахлометан вводили у вигляді 50% олійного розчину підшкірно.

но з розрахунку 0,8мл/100 г маси тіла тварин протягом двох діб з проміжком 24 годин. Досліджуваний екстракт і препарат порівняння вводили тваринам за 1 год до і через 2 год після гепатотропної отрути [4, 5].

Тваринам першої групи вводили водно - спиртовий екстракт з коренів гадючника шестипелюсткового в дозі 2,5 мг/0,1 кг маси тіла; тваринам другої групи - препарат «Силібор в дозі 2,5 мг/0,1 кг маси тіла. Четверта група - інтактні тварини.

Смертність у контрольній групі становила 16,7 %, в інших групах всі тварини залишилися живими до кінця експерименту. Щурів декапітували на третю добу з першого моменту введення тетрахлорметану. Про фармакотерапевтичну ефективність досліджуваних екстрактів робили висновок на основі біохімічних та функціональних показників стану печінки, які визначали через 24 години після останнього введення тетрахлорметану.

Інтенсивність ураження клітинних мембран печінки оцінювали по рівню кінцевого продукту перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) - малоново-

му альдегіду (МА), активності трансаміназ - аламінінтрансамінази (АлАТ), аспартаттрансамінази (АсАТ) та аргінази сироватки крові.

Поряд з цим визначали активність холінестерази, що відображає білок синтезуючу функцію і лужної фосфатази, що засвідчує про застійні явища в печінці.

Рівень кінцевого продукту ПОЛ - малонового альдегіду оцінювали за методикою Е.Н. Коробейнікової [6].

Визначення активності трансаміназ АлАТ і АсАТ проводили уніфікованим динітрофенілгидразиновим методом Раймана - Френкеля за допомогою стандартного набору реактивів фірми «SIMKO Ltd». [7].

Активність аргінази в сироватці крові визначали за методом Сніпачо у модифікації В.А. Храмова і Г.Г. Листопад [8].

Гемоглобін (Hb), еритроцити та лейкоцити визначали за загально прийнятими методами [9].

Активність лужної фосфатази визначали стандартними наборами реактивів фірми «Філіпс - Діагностика. Результати біохімічних і гематологічних показників наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив екстракту коренів гадючника шестипелюсткового на біохімічні та функціональні показники стану печінки

Біохімічні і гематологічні показники	Об'єкти дослідження			Інтактні тварини
	ГШК-1	«Силібор»	50% олійний р-н CCl ₄	
Кількість тварин	9	8	6	8
Доза мг/0,1 к г	2,5	2,5	0,8	----
АлАТ, мкмоль/ год.мл	0,213±0,002	0,22±0,003	1,36±0,021	0,19±0,011
АсАТ, мкмоль/ год.мл	0,165±0,002	0,179±0,004	1,08±0,021	0,16±0,01
МА, сироватка крові Нмоль/мл	3,62±0,037	3,86±0,048	5,81±,090	3,52±0,097
МА, гомогената печінки, мкмоль/г	32,0±0,62	33,8±1,17	62,4±1,12	26,4±1,5
Аргіназа, мкмоль/0,1мл	0,301±0,006	0,312±0,003	0,578±0,008	0,292±0,01
Лужна фосфатаза, мк/кат/л	1,70±0,021	1,84±0,042	2,12±0,009	1,58±0,015
Холінестераза, мк/кат/л	78,90±0,80	72,4±1,03	57,0±1,40	84,4±1,98
Н в, г/л	122±1,90	118±0,91	101±1,74	134±0,96
Еритроцити, Т/л	6,22±0,13	6,30±0,11	6,18±,08	6,40±0,09
Лейкоцити, Г/л	15,1±0,44	14,8±0,35	16,8±0,37	12,9±0,27

Результати досліджень (табл. 2) показали, що введення тваринам тетрахлорметану приводить до ураження печінки, про що свідчить порушення функції мембран та органел гепатоцитів на основі значного збільшення показників ПОЛ - МА, активності АлАТ, АсАТ та аргінази, що являються високо специфічними індикаторами функції мембран гепатоцита та його органел. Рівень цих показників відповідно зростає в декілька разів в порівнянні з інтактними тканинами. Поряд з цим активність холінестерази сироватки крові, яка відображає білок синтезуючу функцію гепатоцита достовірно знижувалась і становила 67 % від норми.

Активність лужної фосфатази сироватки крові, синтез якої пов'язаний з плазматичною мембраною гепатоцитів та мікроворсинками жовчних каналів значно зростає, що свідчить про пору-

шення секреції гепатоцита в жовч і розвиток застійних явищ в печінці.

Значення цих показників при застосуванні водно-спиртового екстракту коренів гадючника шестипелюсткового обумовлювано вірогідне наближення до нормалізації або нормалізацію досліджених показників.

Наведені результати свідчать, що застосування водно-спиртового екстракту з гадючника шестипелюсткового при гострому токсичному ураженні печінки, значно знижує інтенсивність процесу перекисного окислення ліпідів та зменшує токсичність дії тетрахлорметану, забезпечуючи гепатозахисну дію. Поряд з цим обумовлює покращення білоксинтезуючої функції гепатоцитів та зменшує застійні явища в печінці.

Література:

1. Патент на корисну модель №12351. Спосіб одержання екстракту з коренів тирличу ваточни-

ковидного, який проявляє гепатозахисну активність // Цвеюк Н.П., Грицик А.Р., Клименко А.О. - №200500556; Заяв. 21.01.2005; Опубл. 15.02.2006; Бюл.2.

2. Визначник рослин України. Видання друге. АН УРСР. - Київ, 1965. - С.368-371.

3. Гаммерман А.Ф., Кадаев Г.Н., Яценко-Хмелевский А.А. Лекарственные растения (растения-целители): Справочное пособия М.: Высш.шк., - 1983. - С.106-109.

4. Позняков В.С., Иванов Н.Г. Изменение функционального состояния у крыс при воздействии четыреххлористого углерода // Токсикология новых промышленных хим. веществ. - М.: Медицина, 1979. - вып.15. - С.87-89.

5. Доклінічні дослідження лікарських засобів. За ред. член. кор. АНУ України О.В. Стефанова.

Київ: Видавничий Дім «Авіцена». - 2001. - С.334-339.

6. Коробейникова Е.Н.. Модифікація визначення продуктів перекисного окислювання ліпідів у реакції з тіобарбітуровою кислотою // Лаб. дело № 7. - 1989. - С.8 - 10.

7. Лабораторні методи дослідження в клініці / Под. ред. В.В. Меньшикова. - М.: Медицина. - 1987. - С.189 - 190.

8. Храмов В.А, Листопад Г.Г. Модификация метода определения орнитина по Сниначчо и ее использование для количественного определения сывороточной аргиназы // Лаборатория дело. - 1973. - №10, С.591 - 592.

9. Руководство по клинической лабораторной диагностике/ Под ред. М.А. Базарнова. - К.: «Вища школа».-1982.-Т.2.-С.35-48.