

БИОКОМПОЗИТ «ГЕПАДИП» В ГРАНУЛАХ

Жумалиева Н.Ж.¹

¹Инновационный центр фитотехнологий Национальной академии наук Кыргызской Республики, Бишкек, e-mail: nazik0@yandex.com

Нами создан биоконкомпозит «Гепадип» в виде гранул, действующим началом которого является очищенная сумма тритерпеновых гликозидов, выделенных из корней широко распространенного в Кыргызской Республике растения - ворсянки лазоревой семейства ворсянковых (*Dipsacus azureus* Schrenk, *Dipsacaceae*). Очищенная сумма сапонинов (дипсакозид) ворсянки лазоревой обладает антиатеросклеротическими, гиполипидемическими и желчегонными свойствами. В состав «Гепадипа», кроме дипсакозида, входят плоды шиповника - используются при холециститах, гепатитах, снижают уровень холестерина в крови; плоды облепихи - положительно влияют на функции печени, снижают содержание холестерина и жира в крови, плоды облепихи являются дополнительной пищей для печени; цветки бессмертника - употребляются при гепатитах и хронических холециститах, уменьшают уровень холестерина и билирубина в крови. Созданный таким путем биоконкомпозит «Гепадип» при исследованиях на лабораторных животных показал, что он не токсичен и обладает выраженным антиатеросклеротическим, гепатопротекторным и желчегонным действиями. «Гепадип» нами рекомендуется для профилактики атеросклероза, полезен при гепатитах и холецистите.

Ключевые слова: ворсянка лазоревая, дипсакозид, Гепадип, гепатит, холецистит.

BIOCOMPOSITE "GEPADIP" – IN GRANULES

Zhumalievа N.Z.¹

¹Innovative center of phytotechnologies of national academy of Sciences of the Kyrgyz republic, Bishkek, e-mail: nazik0@yandex.com

Created biocomposite "Gepadip" in the form of granules, the active principle of which is the amount of purified triterpene glycosides extracted from the roots of the widely spreaded in Kyrgyz Republic plants - *Dipsacus azureus* Schrenk, *Dipsacaceae*. Purified saponins amount (dipsakozid) *Dipsacus azureus* has antiatherosclerotic, hypolipidemic and choleric properties. The structure of "Gepadip" except dipsakozid hips are used in cholecystites, hepatitis, reduce blood cholesterol levels, sea buckthorn fruit positively affecting the liver function, reduce the cholesterol and fat content, buckthorn fruits are more food for the liver; Flowers immortelle, which are used for hepatitis and chronic cholecystitis, reduce the level of cholesterol and bilirubin in the blood. Created according to presented procedure biocomposite "Gepadip" passed experimental investigations on laboratory animals showed that it is not toxic and has a marked antiatherosclerotic, hepatoprotective and choleric actions. "Gepadip" is recommended for the prevention of atherosclerosis, it is useful for hepatitis and cholecystitis.

Keywords: *Dipsacus azureus*, dipsacoside, gepadip, hepatitis, cholecystitis.

Атеросклероз и связанная с ним ишемическая болезнь сердца занимают ведущее место среди инвалидности и смертности трудоспособной части населения. Создание лекарственных средств, обладающих антиатеросклеротическим действием, является актуальной проблемой.

С этой целью нами был разработан биоконкомпозит «Гепадип», действующим началом которого является очищенная сумма тритерпеновых гликозидов, выделенных из корней ворсянки лазоревой из семейства ворсянковых (*Dipsacus azureus* Schrenk, *Dipsacaceae*).

Ворсянка лазоревая - многолетнее травянистое растение с мощной корневой системой. Ворсянка лазоревая широко распространена по Кыргызскому, Ферганскому, Алайскому хребтам, по предгорьям, адырам в разнотравных степях южного типа [1].

Имеются литературные данные по запасам подземных и надземных органов ворсянки лазоревой по северному склону хребта Кыргызского Ала-Тоо, по северо-восточному склону Ферганского хребта в районе Кош-Тобе и предгорьям в западном склоне хребта Чаар-Таш на высоте 100-1800 м над ур. м. Запасы определяли по методике И.Л. Крыловой и др., 1970 [2]. По северному склону хребта Кыргызский Ала-Тоо общая площадь естественных зарослей составляет более 99 га, с общим запасом корня 353 тонны, а по Тянь-Шаню общая площадь составила 23 га [3]. После 40 лет мы провели сравнительную оценку запасов сырья ворсянки лазоревой по северному склону Кыргызского Ала-Тоо. За это время общая площадь естественных зарослей ворсянки составила до 66 га. Потом нами обнаружены новые, ранее не известные заросли в трех ущельях.

Фитохимические исследования показали, что корни ворсянки лазоревой содержат алкалоиды, флавоноиды, кумарины, смолы и др. Среди биологически активных соединений по количественному содержанию отличаются сапонины - до 30% в фазе отмирания.

Сумма тритерпеновых гликозидов ворсянки лазоревой понижает артериальное давление в крови и устойчивость организма животных к гипоксии. Экспериментальные исследования очищенной суммы сапонинов (препарат Дипсакозид) на лабораторных животных показали, что Дипсакозид обладает желчегонной и гепатопротекторной активностью [4]. При получении Дипсакозида автором использованы дорогостоящие ядовитые химические реактивы и бутанол. Как известно, в бутанол, кроме тритерпеновых гликозидов, переходят также полифенольные соединения. В связи с этим нами разработан усовершенствованный способ получения Дипсакозида.

Материалы и методы

С целью получения очищенной суммы сапонинов разработан усовершенствованный способ получения дипсакозида, для этого измельченные высушенные корни (1 кг) экстрагировали 96%-ным этанолом в аппарате непрерывного действия, или Сокслета. Полученный этанольный экстракт сгущали до сиропобразной массы, затем сапонины осаждали ацетоном. Осадок высушивали в сушильном шкафу под вакуумом, выход составляет 400 г.

С целью очищения от полифенольных и балластных веществ 50 г суммы сапонинов растворяли в небольшом количестве этилового спирта и вносили в колонку с 1000 г силикагеля. Сапонины элюировали системой хлороформ : этанол : вода 80:35:8, контроль фракции осуществляли на пластинках Sulifol в той же системе. Элюаты, содержащие дипсакозид, объединив, упаривали до сиропобразной массы. После охлаждения сапонины осаждали ацетоном. Затем препарат высушивали под вакуумом.

Выход составлял 24 г порошка, или 48% от неочищенной суммы сапонинов.

Дипсакозид, полученный предложенным способом - аморфный порошок белого цвета с желтоватым оттенком, хорошо растворяется в воде, образуя прозрачный раствор.

Сравнительные экспериментальные исследования на лабораторных животных показали, что препараты обоих дипсакозидов одинаково обладают гепатопротекторным свойством [4].

Результаты и обсуждение

Способ получения целебного биокомпозита «Гепадип» - гранулы. Препарат дипсакозид состоит лишь из очищенных тритерпеновых гликозидов, не содержит других биологически активных соединений, улучшающих целебный эффект созданного биокомпозита. В связи с этим в состав биокомпозита, кроме дипсакозида, ввели плоды облепихи, цветки бессмертника и плоды шиповника.

Плоды облепихи содержат комплекс витаминов, аскорбиновую кислоту, каротиноиды, токоферолы, тионин, рибофлавин, а также эфирные масла, органические кислоты и др. Плоды облепихи улучшают пищеварение, нормализуют обмен веществ, предохраняют от тромбообразования, способствуют задержке роста патологических тканей, Облепиховое масло проявляет ранозаживляющие свойства при химических и ожоговых травмах [4; 5].

Цветки бессмертника песчаного содержат флавоноиды, эфирные масла, скополетин, β-ситостерин, стеролин, органические кислоты, каротиноиды, горькие и дубильные вещества. Флавоноиды являются основным действующим веществом препарата «Фламин». Цветки бессмертника применяются главным образом при заболевании желчного пузыря, желчных путей печени (гепатиты), холециститах и желчнокаменной болезни.

Для приготовления 1 кг целебного биокомпозита «Гепадип» в виде гранул требовалось приготовление настоя из плодов шиповника и цветков бессмертника, а также получение сока с мякотью из плодов облепихи. Проводилось измельчение, настоек плодов шиповника и цветков бессмертника, настаивание, очистка и выпаривание. На весах отвешивали в отдельности по 50 г измельченных плодов шиповника и цветков бессмертника.

В эмалированную тару загружали измельченные плоды шиповника, заливали 500 мл воды очищенной, нагревали на слабом огне и кипятили в течение 15 минут, затем настаивали в течение 40 минут при комнатной температуре и периодическом перемешивании. Полученный настой процеживали через марлю в тару, отжимали сырье и полученный слив добавляли к настою, а затем помещали в ротационный испаритель. Выпаривали до получения густого экстракта объемом до 50 мл.

Измельченные цветки бессмертника заливали 500 мл воды очищенной, нагревали на электрической плитке до кипения и настаивали в течение 40 минут при комнатной температуре

и периодическом перемешивании. Полученный настой процеживали через марлю в тару, отжимали сырье и полученный слив добавляли к настою, а затем помещали в ротационный испаритель. Выпаривали до получения густого экстракта объемом до 50 мл. 250 г плодов облепихи, промытой холодной водой, пропускали через мясорубку, процеживали через марлю и отжимали. Таким образом полученный сок помещали в ротационный испаритель. Выпаривали до получения густого экстракта объемом в 50 мл.

Биокомпозит должен изготавливаться по рецептуре, указанной в табл. 1.

Таблица 1

Нормативные требования, разработанные нами для приготовления биокомпозита «Гепадип»

Наименование сырья	Норма, %
Дипсакозид	1
Плоды облепихи	25
Жидкий экстракт из цветков бессмертника (5 г)	5
Жидкий экстракт из плодов шиповника	5

По органолептическим и физико-химическим показателям биокомпозит Гепадип должен соответствовать требованиям, указанным в табл. 2.

Таблица 2

Физико-химические и органолептические требования к Биокомпозиту «Гепадип»

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Сухие гранулы цилиндрической формы, диаметром 2,5-3,5 мм
Цвет	Желтый
Запах	С ароматным запахом облепихи
Вкус	Сладковатый
Подлинность:	
Сапонины	Положительно
Флавоноиды	Положительно
Массовая доля влаги, %	Не более 13
Распадаемость, мин	Не более 15
Массовая доля золы общей, %	Не более 1,54
Массовая доля экстрактивных веществ, извлекаемая 40%-ным спиртом на высушенный препарат	Не менее 82%

Получение биокомпозита «Гепадип» состоит из трех технологических стадий: на весах

отвешивали 10 г дипсакозида, растворяли в приготовленных густых объединенных экстрактах шиповника, цветков бессмертника и облепихи путем тщательного перемешивания с помощью деревянной лопатки. Подготовленное сырье тщательно перемешивали в таре до однородной пластичной массы. На весах в тарированную емкость отвешивали 890 г глюкозы. Влажную смесь в таре обсыпали глюкозой путем тщательного перемешивания до однородного состояния. Полученную смесь небольшими порциями гранулировали и высушивали.

Применяли методы испытаний для подлинности сапонинов: 5 г препарата растворяли в 25 мл дистиллированной воды. Из этого раствора сапонины исчерпывающе извлекали бутиловым спиртом в делительной воронке 3-4 раза. Полученное бутанольное извлечение упаривали на водяной бане досуха. Остаток растворяли в минимальном количестве этилового спирта. На линию старта хроматографической пластинки типа Silufol наносили по 20 мкл испытуемого раствора. Пластинку с нанесенными пробами сушили на воздухе до практически полного высыхания пятен, затем помещали в камеру со смесью растворителей н-бутанол : этанол : 25%-ный раствор аммиака в соотношении 7:2:5 и хроматографировали восходящим методом. Когда фронт растворителей проходил 10 см от линии старта, пластинку вынимали из камеры, сушили в токе холодного воздуха до практического отсутствия запаха растворителей и опрыскивали 25%-ным раствором фосфорновольфрамовой кислоты. Требование: при 100-110 °С проявляются не менее четырех пятен розовато-лилового цвета (тритерпеновые гликозиды) [6].

Подлинность на флавоноиды: 5 г Гепадипа растворяли в 25 мл дистиллированной воды. Из этого раствора флавоноиды исчерпывающе извлекали этилацетатом в делительной воронке не менее 4 раз. Этилацетатные извлечения объединяли и упаривали на водяной бане досуха. Высушенный остаток растворяли в этаноле. На линию старта хроматографической пластинки типа Silufol наносили по 20 мкл испытуемого раствора. Пластинку с нанесенными пробами сушили на воздухе до практически полного высыхания пятен, затем помещали в камеру со смесью растворителей н-бутанол : этанол : 25%-ный раствор аммиака в соотношении 7:2:5 и хроматографировали восходящим методом. Требование: на пластинке обнаруживается одно четкое желтое пятно с хвостиком.

Массовую долю влаги определяли таким образом: брали 5 г гранул навески, сушили в сушильном шкафу при 80 °С в течение 1 часа и взвешивали. Испытание распадаемости гранул проводили с навеской 0,5 г, с использованием сетки с отверстиями 0,5 мм. Гранулы распадались в течение 15 минут. Определение золы по Государственной Фармакопее XI, определение экстрактивных веществ по Государственной Фармакопее X.

Определение экстрактивных веществ: около 1 г измельченного Гепадипа (точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 200-250 мл, прибавляли 50 мл 40%-

ного этилового спирта, колбу закрывали пробкой, взвешивали (с погрешностью 0,01 г) и оставляли на 1 час. Затем колбу соединяли с обратным холодильником, нагревали, поддерживая слабое кипение, в течение 2 часов. После охлаждения колбу с содержимым вновь закрывали той же пробкой, взвешивали и потерю в массе восполняли растворителем. Содержание колбы тщательно взбалтывали и фильтровали через сухой бумажный фильтр в сухую колбу вместимостью 150-200 мл, 25 мл фильтрата пипеткой переносили в предварительно высушенную при температуре 100-105 °С до постоянной массы и точно взвешенную фарфоровую чашку диаметром 7-9 см и выпаривали на водяной бане досуха. Чашку с остатком сушили при температуре 100-105 °С до постоянной массы, затем охлаждали в течение 30 минут в эксикаторе, на дне которого находится безводный хлорид кальция, и немедленно взвешивали. Содержание экстрактивных веществ в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{m * 200 * 10}{ml * (100 - W)}$$

где: m - масса сухого остатка в граммах, ml - масса сырья в граммах, W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Острая токсичность биокомпозита Гепадип была изучена на интактных белых мышах массой 18-20 г при однократном внутривенном введении водного раствора Гепадипа в соотношении 10/1 в дозах 25, 50, 100, 300, 500 и 600 мг/кг. Установлено, что препарат в дозах 25, 50 и 100 мг/кг не вызывает видимых токсических явлений в общем состоянии животных, увеличение дозы препарата привело к замедлению дыхания, саливации (животные принимали боковое положение) и гибели около десятой части животных.

Обработка полученных данных показала, что ЛД-50 Гепадипа составляет при внутривенном введении 740/485,9+416,84 мг/кг, при пероральном введении белым мышам в больших дозах (от 0,02-1,0 г на 1 особь) все животные выжили, оставаясь здоровыми в течение длительного периода наблюдения (3 месяца).

С целью определения малотоксичности Гепадипа было проведено изучение морфофункционального состояния органов кроветворения, нервной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем при воздействии биокомпозита Гепадип.

За это время было проведено исследование влияния Гепадипа на организм экспериментальных животных - половозрелых крыс (самцов) весом 140-160 г.

Нами проведено изучение гипохолестеринемических свойства Гепадипа.

Результаты первичного скрининга на предмет наличия у препарата Гепадип гипохолестеринемического эффекта показали, что биокомпозит Гепадип в дозах 200 и 500

мг/кг, при однократном пероральном введении крысам (17 особей) на фоне твина - 80 снижает концентрацию холестерина крови.

Гепадип в дозе 200 мг/кг при 4-дневном введении крысам (20 особей) «витаминовой» моделью гиперхолестеринемии концентрацию холестерина снижает на 43,4% и триглицеридов крови – на 34% ($P < 0,001$) по сравнению с контрольными животными.

Заключение

1. Нами разработан целебный биокомпозит Гепадип в виде гранул, действующим началом которого является очищенная сумма тритерпеновых гликозидов - (дипсакозид), выделенных из корней ворсянки лазоревой, обладающей антиатеросклеротическим и гиполипидемическим действием. В состав Гепадипа, кроме дипсакозида, выделенного из корней ворсянки лазоревой (*Dipsacus azureus* Schrenk), входят плоды шиповника, используемые при холецистите, гепатитах, которые снижают содержание холестерина в крови; плоды облепихи, положительно влияющие на функции печени, снижающие содержание жира и холестерина; цветки бессмертника, применяемые при хронических холециститах и гепатитах, уменьшающие содержание билирубина и холестерина в крови.

2. Изучены органолептические и физико-химические показатели биокомпозита Гепадип.

3. Экспериментальные исследования на лабораторных животных показали, что Гепадип обладает антиатеросклеротическими, гепатопротекторными и желчегонными свойствами и может быть применён для профилактики атеросклероза, при гепатитах и холецистите.

Список литературы

1. Георгий А. Лазьков, Бейшекан А. Султанова. Кадастр флоры Кыргызстана (Сосудистые растения). – *Notoglinia* 24, 2011. - С. 125.
2. Крылова И.Л., Михайлова Е.Ф., Исайкина А.П., Будахова Г.В. Распространение, запасы и продуктивность диоскореи кавказской (*Dioscorea caucasica* Lipsky) // Фармация. – 1970. - № 4. - С. 36-40.
3. Шалпыков К.Т. Естественные запасы основных лекарственных растений северо-восточного Тянь-Шаня // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 8-7. – С. 1600-1604.
4. Жумалиева Н.Ж., Акималиев А., Курманов Р.А. Оценка запасов сырья *Dipsacus azureus* (*Dipsacaceae*) на северном макросклоне хребта Кыргызский Ала-Тоо // *Растительные ресурсы*. – 2015. – Т. 51, № 3. – С. 324-325.

5. Шалпыков К.Т., Асанбаев А.М. Рекомендации по технологии размножения и выращиванию облепихи крушиновидной (*Hipporhae rhamnoides* L.) в условиях Кыргызстана. – Бишкек, 2011. - 36 с.
6. Коломиец Н.Э. Фармакогностическое исследование рода EQUISETUM L. флоры Сибири как источника лекарственных средств: автореф. дис. ... доктора фармацевтических наук. – М., 2010. - 42 с.