

КОНСТРУИРОВАНИЕ НОВЫХ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ ФИТОПРЕПАРАТОВ

В. Д. Авдаченок, канд. вет. наук, доцент

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
ул. 1-я Доватора, 7/11, г. Витебск, 210026, Республика Беларусь

Конструирование фитопрепаратов с применением ультразвука является весьма перспективным способом получения новых фитопрепаратов. При этом определены параметры ультразвуковых волн (частота, амплитуда волны, мощность) и временные интервалы обработки сухих экстрактов.

Ключевые слова: ФИТОПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ЗВЕРОБОЯ, УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ ВОЛНЫ, КОНСТРУИРОВАНИЕ ФИТОПРЕПАРАТОВ.

В отличие от синтетических препаратов, применение лекарственных растительных средств, содержащих необходимые лечебные начала в соотношениях, оптимально сбалансированных в процессе эволюции человека и растений самой природой и в форме, естественной для организма человека и легко им усвояемой, следует рассматривать как наиболее физиологичный метод нормализации обменных процессов и восстановления функциональных возможностей организма [1, 3, 12].

Препараты, полученные из лекарственного растительного сырья, представляют большой интерес, как физиологичные, малотоксичные, экологически чистые. Очень важным является достаточное количество недорогого растительного сырья [8, 10, 11].

Растения сами могут производить нужное для человека количество органических соединений. Ведь в сущности растения – это природные фабрики по производству органических субстанций из неорганических соединений. Конечно, получение нужных для фармацевтической промышленности субстанций имеет место и давно отлаженный механизм получения фитопрепаратов. Проблема существует только в одном – фитопрепараты по своей терапевтической эффективности не могут сравниться с препаратами химического синтеза.

Нами была выдвинута гипотеза, что возможно конструировать фитопрепараты, которые по своей эффективности не будут уступать химическим препаратам или будут к ним очень близки по терапевтическому эффекту. В связи с этим, перед нами открываются безграничные возможности производства препаратов на основе растительного сырья. Тогда становится актуальным вопрос: каким образом и каким способом конструировать высокоэффективные фитопрепараты?

Речь пойдет о совершенно новом способе конструирования фитопрепаратов. Прежде, чем перейти к самой сути получения фитопрепаратов нового поколения, необходимо сделать небольшое отступление о возможностях ультразвука и его применении в фармакологии.

Ультразвук – не слышимые человеческим ухом упругие волны частотой свыше 20 кГц. Термин «ультразвук» – понятие собирательное, так как охватывает весьма широкий спектр частот, отличающихся специфическим воздействием на различные компоненты озвучиваемой среды. В звуковом ультразвуковом диапазоне от 16 Гц до 20 кГц возникают такие физико-химические явления, как акустическая кавитация и др. Именно кавитация является самым важным процессом в получении фитопрепаратов нового поколения [2, 4].

В фармации ультразвук находит применение в экстракции, при растворении, получении эмульсий, суспензий, изготовлении микрогранул, стерилизации и фонофорезе,

производстве ампул, т. е. там, где ультразвук непосредственно контактирует через жидкую фазу с молекулой вещества [5].

Нами была применена ультразвуковая кавитация в качестве процесса инициации получения нового фармакологического средства. Ультразвуковая кавитация является основным инициатором физико-химических процессов, возникающих в жидкости [4].

Кавитация образуется путем трансформации энергии ультразвука с низкой плотностью в энергию с высокой плотностью вблизи и внутри газового пузырька, зарождающегося в среде. Ультразвуковая волна, проходя через жидкость, создает зоны сжатия и разрежения, меняющиеся местами в каждый полупериод прохождения волны. При этом возникает знакопеременное давление. При малой интенсивности ультразвука колебательные движения частиц жидкой среды имеют малую амплитуду и громадное ускорение, превышающее в 100000 раз силу тяжести. Если интенсивность ультразвука увеличить, однородность жидкости нарушается и появляется нестабильная кавитация. Она характеризуется образованием быстрорастущих парогазовых пузырьков, которые в фазе сжатия мгновенно сокращаются в объеме и схлопываются, т. е. наступает коллапс. Для разных жидкостей независимо от их вязкости и прочности давление, при котором образуется кавитация, находится в пределах $(1,0-3,9) \cdot 10^5$ Па. Кавитация сопровождается разогревом сжатой парогазовой смеси, высокими радиальными скоростями стенок пузырька, превышающими порой скорость звука, большим давлением – более 1000 МПа. На месте исчезнувшего пузырька образуется ударная волна. Таким образом, в среде создается сложная гидродинамическая обстановка, которая влияет на структуру жидкости. Одновременно существует общее акустическое давление. Все это приводит к неоднородности давления, что порождает быстрые микропотоки и общее течение, которые способны изменить конформационную структуру озвучиваемой молекулы, ее пространственную ориентацию и свойства. В этом отношении звукохимические эффекты, связанные с превращением энергии упругих колебаний ультразвука, являются одним из видов механохимических реакций [9].

Таким образом, применение ультразвуковых волн, как элемента механохимических воздействий на сухой экстракт может быть новым этапом в конструировании фитопрепаратов с высоким терапевтическим эффектом.

Целью наших исследований являлось изучение влияния ультразвуковых волн (частоты, амплитуды волны, мощности и времени обработки) на содержание действующих веществ – флавоноидов в препарате, полученном из экстракта зверобоя продырявленного.

Материалы и методы. Работа была выполнена на кафедре фармакологии и токсикологии УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины» в лаборатории кафедры на ультразвуковом диспергаторе. Применяемая частота составляла 22,5 кГц, при амплитуде движений со смещением не менее 30 мкм, при этом режим работы был импульсный непрерывный, форма выходного напряжения – синусоида, мощность ультразвука на выходе в эксперименте составляла 350 ± 10 Вт.

Препарат, полученный из сухого экстракта зверобоя продырявленного, стандартизировали на кафедре промышленной технологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Количественное определение флавоноидов (в пересчете на рутин), как основных действующих веществ в препаратах полученных из зверобоя продырявленного определяли с помощью следующей методики.

Испытуемый раствор. 1,0 мл испытуемой суспензии и 1,0 мл раствора 20 г/л алюминия хлорида Р в 96 % спирте Р довели 96 % спиртом Р до объема 25,0 мл. Раствор сравнения. 0,05 г ФСО рутин, предварительно высушенного при температуре от 130 °С до 135 °С в течение 3 ч, растворяли в 96 % спирте Р при нагревании на водяной бане, охлаждали и довели до объема 100,0 мл этим же растворителем. К 1,0 мл полученного раствора

прибавляли 1,0 мл раствора 20 г/л алюминия хлорида Р в 96 % спирте Р и доводили 96 % спиртом Р до объема 25,0 мл.

Компенсационный раствор. 1,0 мл раствора А и 1 каплю кислоты уксусной разведенной Р доводили 96 % спиртом до объема 25,0 мл. Через 40 мин измеряли оптическую плотность растворов при 415 нм на спекрофотометре Specord – 250 («Analytik Jena», Германия). Важным аспектом является тот факт, что определяющей длиной волны является именно 415 нм, что позволяет более точно определить содержание суммы флавоноидов в фитопрепарате, полученном из зверобоя продырявленного.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах рассчитывали по формуле:

$$\frac{A \cdot m_0 \cdot 100}{A_0 \cdot v},$$

где:

А – оптическая плотность испытуемого раствора;

А₀ – оптическая плотность раствора сравнения;

v – объем испытуемой суспензии, мл;

m₀ – масса навески ФСО рутина, г.

В эксперименте были задействованы 2 группы. Первая группа содержала сухой экстракт зверобоя обработанный ультразвуком, вторая группа служила контролем и содержала сухой экстракт зверобоя, не обработанный ультразвуком.

Полученные данные были статистически обработаны в программе Excel.

Результаты и обсуждение. При конструировании препарата после обработки сухого экстракта зверобоя продырявленного ультразвуком в жидкой среде, происходит уменьшение размера частиц экстракта, и получается стабильная суспензия, при этом в водную среду переходят флавоноиды и антраценопроизводные, в виде "свободной" фракции. Уменьшение размеров частичек экстракта ведет к увеличению скорости всасывания действующих веществ из кишечника, благодаря своей физиологичности. При этом улучшается биодоступность полученного фитопрепарата, повышается его всасываемость и расширяется область терапевтического применения, снижается доза препарата на до 40 %, именно благодаря наличию "свободной" фракции флавоноидов и антраценопроизводных в готовом препарате.

Суть нашего изобретения [6] состоит в том, чтобы уже полученные сухие экстракты любых лекарственных растений, например, зверобоя продырявленного, подвергать ультразвуковой обработке, используя при этом определенный временной интервал и параметры ультразвука, которые дают возможность использовать механохимические реакции и получать принципиально новые фитопрепараты.

Полученный фитопрепарат представляет собой стойкую суспензию в водной или спиртовой среде, при этом важным аспектом является то, что количество действующих веществ сохраняется в готовом препарате в сравнении с исходным экстрактом. При этом мы получаем фитопрепарат, спектр терапевтического действия которого отличается от сухого экстракта до обработки его ультразвуком и доза, которую мы применяем для достижения аналогичного терапевтического эффекта, в сравнении с сухим экстрактом, снижается на 25-40 % [7].

Размеры частичек экстракта полученного фитопрепарата, после обработки ультразвуком, характеризуются тем, что они в суспензии составляют 2-20 мкм (фото 1 и 2).

Получают препарат следующим образом: сухой экстракт зверобоя в количестве 95-105 мг засыпают в склянку, объемом 50 мл и заливают водой очищенной или спиртом этиловым 40 % до 10 мл, после чего жидкую фазу обрабатывают ультразвуком, в течение 30-90 секунд в кавитационном режиме до размера частиц порядка 20 мкм. Затем расфасовывают по флаконам готовый продукт [6, 7].

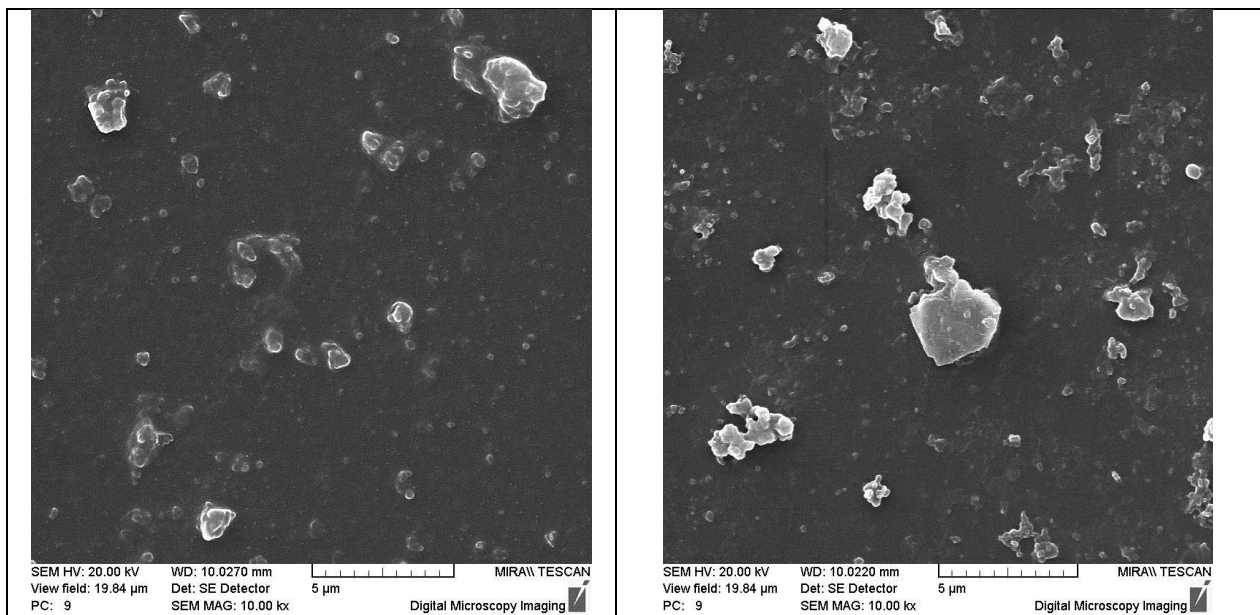


Фото 1 и 2 – снимки электронного микроскопа. Размеры частиц экстракта после обработки ультразвуком.

При изучении количества флавоноидов в препарате после обработки его ультразвуком получили следующие результаты. Образцы сухого экстракта зверобоя, обработанного ультразвуком, представлены с раствором сравнения – рутином. Данные представлены на рисунке 1 и в таблице 1. Данные в опытной группе представлены графиком снизу, контроля - графиком сверху.

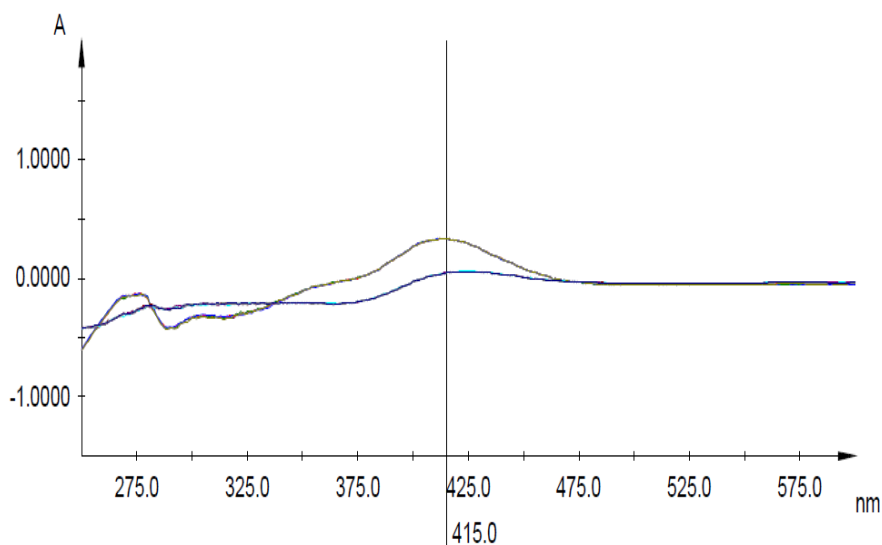


Рис. 1. Содержание флавоноидов в сухом экстракте зверобоя, обработанного ультразвуком, представлены с раствором сравнения - рутином.

В представленной таблице и графике видно, что содержание флавоноидов в обработанном ультразвуком фитопрепарате составляет 48,5 %, в сравнении с содержанием их в сухом экстракте до обработки. Однако, несмотря на снижение количества флавоноидов в новом фитопрепарате, его терапевтический эффект увеличивается, что несомненно связано с наличием "свободной" фракции флавоноидов и антраценопроизводных в готовом препарате.

Таблица 1

Содержание флавоноидов в сухом экстракте зверобоя, обработанного ультразвуком, представлены с раствором сравнения – рутином

№ испытания	Значения оптической плотности испытуемого раствора (A_0)	Средние значения оптической плотности раствора сравнения (\bar{A}_0)	Значения оптической плотности раствора сравнения (A)	Средние значения оптической плотности испытуемого раствора (\bar{A})	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте травы зверобоя, %
1	$A_{0(1)}= 0,3259$	$\bar{A}_0=0,34607$	$A_1=0,6811$	$\bar{A}=0,6811$	2,78±0,10
	$A_{0(2)}= 0,3683$		$A_2=0,6811$		
	$A_{0(3)}= 0,3654$		$A_3=0,6811$		
	$A_{0(4)}= 0,3247$		$A_4=0,6811$		
2	$A_{0(1)}=0,4706$	$\bar{A}_0=0,4704$	$A_1=0,0527$	$\bar{A}=0,0534$	5,73±0,15
	$A_{0(2)}=0,4705$		$A_2=0,0539$		
	$A_{0(3)}=0,4700$		$A_3=0,0536$		

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в сухом экстракте травы зверобоя до и после обработки ультразвуком представлены в таблице 2.

Таблица 2

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов

n	ν	\bar{x}	S	S_x^2	P	$t(P, \nu)$	Δx	$\Delta \bar{x}$
1	4	2,78	0,24	0,09	95	2,78	0,66	0,10
1	3	5,73	0,36	0,13	95	2,78	0,81	0,15

Важным фактором при конструировании препарата является время обработки экстракта ультразвуком. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Содержание флавоноидов в образцах в зависимости от времени обработки

Группы	Время обработки ультразвуком, с	Содержание суммы флавоноидов (в пересчете на рутин), %
1	10	1,02
2	20	1,66
3	30	3,09
4	40	0,64
5	50	1,74
6	60	1,77

В эксперименте по изучению влияния времени обработки, получили результаты, представленные в таблице 3. Из данных видно, что применение ультразвуковых волн менее 10 секунд – малый промежуток времени для волн при получении препарата нужного качества. В проведенных исследованиях более чем на 100 образцах установлено, что оптимальным временем воздействия является диапазон от 20 до 40 секунд. А самым оптимальным показателем является время 30±5 секунд. После 60 секунд воздействия ультразвуком количество флавоноидов в препарате снижается, что свидетельствует о бесперспективности обработки экстрактов более указанного времени.

ВЫВОДЫ

Применение ультразвуковых волн в конструировании препаратов, полученных из растительного сырья, является весьма перспективным. Полученные данные в эксперименте позволяют утверждать, что уже в готовом фитопреparate количество действующих веществ (флавоноидов) находится в количестве $2,78 \pm 0,10$ %, а в сухом экстракте – $5,73 \pm 0,15$ %, что составляет 48,5 % от первоначального количества находящихся в сырье, а оптимальным временем обработки сухого экстракта зверобоя продырявленного, при конструировании фитопреparate является 30 ± 5 секунд. Полученные фитопрепараты обладают расширенным спектром терапевтического действия, т. е. лечебные свойства отличаются от сухих экстрактов, не обработанных ультразвуком (данные получены в производственных экспериментах) [10]. Представленный способ экологически обоснован и экономически выгоден, в сравнении с традиционными способами получения фитопреparate.

Перспективы исследований. Применение ультразвуковых волн в конструировании новых фитопреparate требует полного изучения в дальнейшем.

КОНСТРУЮВАННЯ НОВИХ ВИСОКОЕФЕКТИВНИХ ФІТОПРЕПАРАТІВ

В. Д. Авдаченко

УО "Вітебська ордена "Знак Пошани" державна академія ветеринарної медицини"
вул. 1-а Доватора, 7/11, м. Вітебськ, 210026, Республіка Білорусь

АНОТАЦІЯ

Конструювання фітопрепаратів із застосуванням ультразвуку є дуже перспективним способом отримання нових фітопрепаратів. При цьому визначені параметри ультразвукових хвиль (частота, амплітуда хвилі, потужність) і тимчасові інтервали обробки сухих екстрактів.

Ключові слова: ФІТОПРЕПАРАТ НА ОСНОВІ ЗВІРОБОЮ, УЛЬТРАЗВУКОВІ ХВИЛІ, КОНСТРУЮВАННЯ ФІТОПРЕПАРАТІВ.

THE USE OF ULTRASOUND WAVES IN THE DESIGN OF PHYTOPREPARATIONS

V. D. Avdachenok

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine
7/11, street 1th Dovatora, Vitebsk, 210026, Republic of Belarus

SUMMARY

The design of phytopreparations using ultrasound is a very promising way to discover new phytopreparations. In this case the parameters of ultrasonic waves (frequency, wave amplitude, power) and the time intervals of the processing of dry extracts.

Keywords: PHYTOPREPARATION BASED ON HYPERICUM, ULTRASOUND WAVES, PHYTOPREPARATION DESIGN.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Авдаченко В. Д.* Токсико-фармакологическая характеристика препаративных форм зверобоя продырявленного и их эффективность при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта овец и телят: Автореферат дисертации. кан. вет. наук: 03.00.19, 16.00.04. – Витебск, 2006. – 24 с.
2. Изучение экстракции биологически активных веществ из лекарственного сырья под действием ультразвука / Н. В. Семагина и др. // Хим.-фарм. журн. 2000. – Т. 3, 4, № 2. – С. 26–29.
3. *Лапина В. А.* Применение средств эфферентной терапии в комплексном лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией / В. А. Лапина, С. С. Абрамов, В. В. Великанов // Ветеринарная медицина Белорусии. – 2003. – № 1. – С. 24–25.
4. *Молчанов Г. И.* Фармацевтические технологии: современные электрофизические биотехнологии в фармации: Учебное пособие / Г. И. Молчанов, А. А. Молчанов, Ю. А. Морозов. – М.: Альфа-М:ИНФРА – М., 2009. – 336 с.
5. *Пантюхина Е. В.* Изучение влияния ультразвука на процесс извлечения биологически активных веществ из травы донника лекарственного // Актуальные проблемы фармации. Владикавказ: Изд-во Горский госагроуниверситет, 2007. – С. 63–64.
6. Патент на полезную модель UA № 111917 «Спосіб одержання лікувального екстракту з трави звіробою».
7. Патент РБ № 20403 «Способ получения средства для лечения и профилактики нематодозов и трематодозов у животных».
8. Теоретические и практические основы применения лекарственных растений при паразитарных болезнях животных / А. И. Ятусевич и [др.] // Методические рекомендации УО ВГАВМ, 2011 г.
9. Фильтрационный массообмен в плодах при периодическом изменении давления в экстракторе / Е. В. Иванов и др. // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: Мат. VI Международного съезда. СПб., 2002. – С. 65–68.
10. Фитотерапия – экологически чистый способ борьбы с паразитами / А. И. Ятусевич, Ж. В. Вишневец, В. Д. Авдаченко // Экология и инновации. Материалы VII Международной научно-практической конференции, г. Витебск, 22-23 мая 2008 года. – Витебск: УО «ВГАВМ», 2008. – С. 33–35.
11. *Шмерко Е. П., Мазан И. Ф.* Практическая фитотерапия. Опыт лечения растениями / Под. ред. Конопля Е.Ф., Кожева Л. А – Минск: Лечприрода, 1996. – 640 с.
12. *Ятусевич А. И., Братушкина Е. Л., Мироненко В. М.* Распространение гельминтозов крупного рогатого скота различных возрастных групп в некоторых районах Республики Беларусь // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2012. – № 1. – С. 51–54.

Рецензент – В. В. Великанов, к. вет. н., доцент кафедры клинической диагностики УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».