



УДК 615.1:615.322

**PREDICTION THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SUBSTANCES FROM  
MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS BY THE *IN SILICO* METHOD  
WITH EVALUATION OF EXTRACTION EFFICIENCY OF VARIOUS  
TYPES OF EXTRACTIONS**

**ПРОГНОЗУВАННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РЕЧОВИН З ЛІКАРСЬКОЇ  
РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ МЕТОДОМ *IN SILICO* З ОЦІНКОЮ ЕКСТРАКЦІЙНОЇ  
ЕФЕКТИВНОСТІ РІЗНИХ ВИДІВ ЕКСТРАКЦІЙ**

**Borysiuk I. Yu. / Борисюк І. Ю.,**  
*PhD/д.фарм.н.,*

**Valivodz I. P. / Валіводзь І. П.,**  
*Candidate of Biological Sciences*

**Akischeva A. S. / Акішева А. С.,**  
*assistant/асистент*

**Molodan Y. O. / Молодан Ю. О.**  
*assistant/асистент*

**Markova I. E. / Маркова І. Є.**  
*student/студент*

**Saprunova V. S. / Сапрунова В. С.**  
*student/студент*

*Одеський національний медичний університет,  
Валіховський провулок 2, Одеса, 65082*

*Odessa National Medical University, Valikhovskiy lane, 2, Odessa, 65082*

**Анотація.** Основним принципом фармакокорекції неврозів є призначення седативних, анксиолітичних засобів, з яких краще застосування препаратів рослинного походження, оскільки вони мають меншу кількість побічних ефектів. За допомогою програмного забезпечення PASS здійснено прогнозування протисудомної активності окремих сполук, що входять до складу ЛРС. Виявлено високі індекси протисудомної активності для алкалоїду протопіну, флавоноїду рутину, фумарової кислоти переважно за рахунок взаємодії з ГАМК рецепторами. Розробка технології отримання екстракту методом водної екстракції є цікавим вирішенням питання раціоналізації процесу екстракції.

**Ключові слова:** протисудомна активність, фармакотерапія, епілепсія, екстракція.

**Вступ.**

До найбільш розповсюджених захворювань ЦНС за даними ВООЗ відносять саме епілепсію. Лікування епілепсії відбувається за допомогою декількох методів, основним з яких є застосування протиепілептичних лікарських засобів із характерними для кожного з них механізмами дії. Серед арсеналу лікарських засобів, що використовують для лікування даної неврологічної патології, на ринку України та інших країн представлені препарати саме синтетичного походження. На жаль, на сьогоднішній день доступні протиепілептичні засоби не здатні контролювати перебіг захворювання майже у кожного другого пацієнта; їх застосування супроводжується різноманітними побічними ефектами від мінімальних порушень ЦНС до летального випадку внаслідок порушень роботи печінки або змін картини крові. Одним з перспективних напрямів розробки лікарських засобів для лікування епілепсії є застосування фітотерапевтичних засобів, що й



стало завданням нашої роботи. Відомо, що препарати рослинного походження здатні впливати на різні ланки патогенезу, мають сприятливий вплив на роботу ЦНС в цілому, що значно зменшує ризик так званих епілептичних розладів особистості. Аналіз літературних джерел, пошук, розробка нових саме фітотерапевтичних лікарських засобів з широким спектром фармакологічної активності, підбір методів оцінки протисудомної активності є доцільним та виправданим.

**Метою дослідження** стало прогнозування біологічної активності речовин із листя Рутки Шлейхера та коренів Півонії незвичайної методом *in silico* й розробка оптимального способу отримання сухого екстракту з лікарської рослинної сировини.

**Матеріали та методи** Для вирішення поставлених завдань були використані наступні методи досліджень: бібліосемантичні (для узагальнення результатів аналізу літературних і власних експериментальних даних); аналіз, узагальнення, порівняння, експеримент, вимірювання, спостереження, математична статистика.

**Об'єктом** нашого дослідження слугували, такі рослини як Рутка Шлейхера та Півонія Незвичайна, материнка звичайна. Вони становлять інтерес, як джерело біологічно активних речовин у зв'язку з їх легкодоступністю і поновлюваністю. Як листя Рутки Шлейхера, так і корені Півонії незвичайної містять біологічно активні речовини, здатні виявляти антиоксидантні властивості, хімічна структура яких доступна впливу ферментних систем організму людини. Біологічно активні речовини у складі листя Рутки Шлейхера, так коренів Півонії незвичайної мають високий проти судомний потенціал і можуть розглядатись для подальшого вивчення з метою отримання протисудомного лікарського препарату.

#### **Півонія Незвичайна *Paeonia anomala L.*, Родина Піонові *Paeoniaceae***

Багаторічна трав'яниста рослина. Має довгасті, потовщені кореневі бульби, з яких виростають товсті тверді стебла з листям, пластинки яких бувають розділені та складні, з великими красивими квітками. Листя на стеблі 3-5, вони великі, черешкові, двічі-тричі розсічені. Кожна квітка має в нижній частині п'ять вільних шкірястих чашолистків, 5-12 вільних пурпурових пелюсток віночка, 3-5 маточок, багато тичинок і кілька волохатих зав'язей, які після запилення дозрівають у плоди - листівки. Квітки зазвичай махрові, оскільки тичинки переважно перетворюються на пелюстки віночка. Рослина отруйна.

Коріння містять глюкозу, галактозу, арабінозу, рамнозу, органічні кислоти, ефірні олії, монотерпени, тритерпени, фенольні кислоти та похідні: 0,07–0,2% саліцилова кислота, метилсаліцилат, 8,8% дубильні речовин. Головним чином сировина містить ефірні олії: трава – 1,2%, коріння – 1,6%. Головна складова частина ефірної олії – пеонол. Також міститься фенілсаліцилат. У траві містяться глікозиди пеоніфлорин (монотерпеновий глікозид) та пеонолід, рутин, кверцетин.

Із літературних джерел відомо, що настоянка на основі коріння півонії виявляє цінні лікувальні властивості: протисудомну, знеболювальну, онкопротекторну, спазмолітичну, протизапальну, протимікробну дію. Особливо



півонія має сильно виражену седативну дію, підвищує апетит і покращує травлення, а також кислотність шлункового соку. Препарати півонії благотворно впливають на центральну нервову систему, а саме, заспокоюють, знижують і усувають спазми гладкої мускулатури внутрішніх органів та кровоносних судин, а також сприяють усуненню судом.

Потенційну біологічну активність компонентів Півонії Незвичайної визначали шляхом віртуального скринінгу програмою PASS (Prediction of Activity Spectra for Substance).

Відомо, що програма PASS заснована на концепції спектру біологічної активності, що є сукупністю всіх властивих для даної речовини фармакологічних ефектів, біохімічних механізмів дії, а також видів специфічної токсичності з метою надати оцінку «схожості/відмінності» сполуки, БАР, по відношенню до відомих БА субстанцій. Попередніми оцінками ймовірностей досліджуваних сполук є наявності ( $P_a$ ) і відсутності кожного виду активності ( $P_i$ ), які мають значення від 0 до 1 і розраховуються незалежно за підвбірками активних і неактивних сполук, і тому їхня сума не дорівнює одиниці. Що більшою є величина  $P_a$  і що меншою величина  $P_i$ , то спостерігається більший шанс для сполук виявити цю активність в експерименті. Результат даного прогнозування представлений у вигляді списку активностей з наближенням  $P_a$  і  $P_i$ , який побудований у порядку зменшення залежності  $(P_a - P_i) > 0$ .  $P_a$  є оцінкою ймовірності сполуки бути активною та неактивною відповідно для кожного виду активності спектра біологічної дії. Її значення змінюються у межах від 0.000 до 1.000.

Для здійснення прогнозу ймовірної протисудомної активності окремих сполук, що входить до складу досліджуваних видів сировини були обрані найбільш специфічні субстанції, які входять до складу випробовуваної ЛРС. Як правило, фармакологічна дія сполуки не обмежується одним типом активності.

Як правило, комп'ютерне моделювання використовується для прогнозування шляхів синтезу нових сполук або для передбачення фармакологічної активності ще не синтезованих сполук. Проте розробка нових підходів до прогнозування протисудомної активності сполук рослинного походження на основі структурних молекулярних характеристик виявилась актуальним питанням. Враховуючи це, здійснення аналізу структури субстанцій рослинного походження з використанням PASS-прогнозу було актуальним та цікавим як з наукової, так і з практичної точки зору.

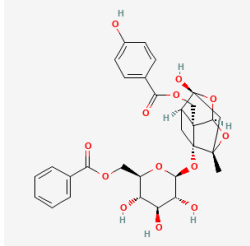
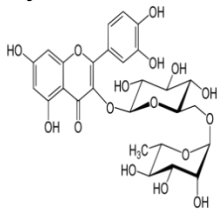
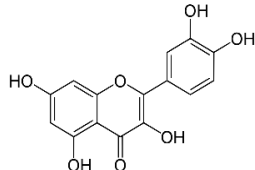
Однорічна, рідко дворічна гола рослина. Висота рослини 20-30 см. Покрито сірувато-зеленим восковим нальотом. Стебло висхідне або прямостояче, розгалужене. Листя двоякоперисті або двічі перисто-розсічені на вузькі подовжено-лінійні частки. Квітка рожево-фіолетова, неправильної форми, 7-9 мм завдовжки, в пазушних кистях. Віночок із чотирьох неоднакових пелюсток, верхній з яких має короткий шпорець біля основи. Цвіте з червня до жовтня, плодоносить у липні-жовтні. Плід - притиснуто-округлий горішок.

Алкалоїди (до 1,6%), органічні кислоти (фумарова, гліколева, яблучна, лимонна, янтарна, кавова, хлорогенова), дубильні речовини (2,8%), вітаміни К



та С. У групі алкалоїдів присутні сангвінарин, протопін, криптокавін, 1-тетрагідрокоптизин, ауретензин, криптокарпін.

**Таблиця 1 - Прогнозування біологічної активності речовин екстракту кореня Півонії Незвичайної за допомогою програмного забезпечення PASS**

Півонія	БАР	Pa	Pi	Властивості
Незвичайна	<b>Пеоніфлорин</b> 	0,985	0,003	Протизапальні
		0,976	0,003	Протиалергічні
		0,931	0,002	Міорелаксантні
		0,858	0,009	Ноотропні
		0,284	0,026	Антиоксидантні
		0,131	0,018	Блокатор гліцинових рецепторів
		0,169	0,113	Підсилювач нейротрофічного фактору
	<b>Рутин</b> 	0,923	0,003	Антиоксидантні
		0,120	0,062	Інгібітор вивільнення глутамату
		0,321	0,011	Підсилювач нейротрофічного фактора
		0,728	0,013	Протизапальні
	<b>Кверцетин</b> 	0,302	0,005	Міорелаксантні

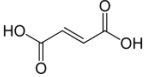
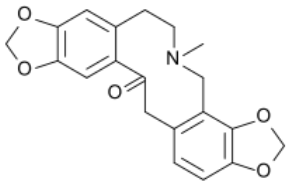
### **Рутка Шлейхера *Fumaria officinalis* , Родина Руткові *Fumariaceae***

Потенційну біологічну активність компонентів Рутки Шлейхера визначали шляхом віртуального скринінгу програмою PASS (Prediction of Activity Spectra for Substance).

Усі існуючі способи екстрагування рослинної сировини класифікують на статистичні та динамічні. У статистичних способах сировину періодично заливають екстрагентом і настоюють з перемішуванням чи без перемішування. У динамічних передбачається постійна зміна екстрагенту або екстрагенту та сировини. Серед статистичних і динамічних способів екстрагування розрізняють періодичні, коли екстрагування однієї або декількох порцій сировини проводиться протягом певного часу, та безперервні, що характеризуються безперервною подачею сировини та екстрагента. До періодичних методів відносять мацерацію, дробну мацерацію, перколяцію, реперколяцію, циркуляційну екстракцію, так звані «традиційні» методи екстрагування.



**Таблиця 2 - Прогнозування біологічної активності речовин екстракту кореня Рутки Шлейхера за допомогою програмного забезпечення PASS**

Рутка Шлейхера	БАР	Pa	Pi	Властивості
	Фумарова кислота 	0,323	0,107	Протисудомні
		0,680	0,009	Антигіпоксичні
		0,411	0,011	Антиоксидантні
		0,252	0,047	Діуретичні
	Протопін 	0,177	0,020	Інгібітор глутаматдекарбоксілази
		0,512	0,033	Протисудомні
		0,543	0,084	Протиішемичні, церебральні
		0,712	0,004	Міорелаксантні
		0,763	0,024	Антиневротичні

Екстрагування ЛРС – це складний масообмінний процес, який складається з кількох окремих процесів, що тісно переплітаються між собою: дифузії, осмосу, діалізу, розчинення і десорбції речовин. Процес екстрагування рослинної сировини починається з проникнення екстрагента в матеріал, змочування речовин, що знаходяться всередині клітин, потім їх розчинення і десорбції, далі відбувається дифузія крізь отвори клітинної оболонки, а закінчується масопереносом речовин від поверхні матеріалу до розчину. При екстрагуванні ЛРС важливими параметрами є: вид екстрагента, співвідношення екстрагент-сировина, розміри частинок висушеної ЛРС, температура, тривалість екстрагування і гідродинамічні умови. Відомо, що ефективність екстракції визначається рядом основних факторів, а саме: фармако-технологічними властивостями ЛРС, природою екстрагента та умовами проведення процесу екстрагування. До першої групи відносяться: вологість, здрібненість сировини, насипна густина до та після усадки, коефіцієнти набухання та поглинання та ін.

Відомо, що основною метою виробництва екстракційних препаратів є максимальне вилучення БАР з клітин ЛРС при мінімальному вмісті в екстракті баластних речовин, що досягається шляхом дослідження умов екстрагування і, як наслідок, правильним вибором екстрагента та методу екстрагування. Важливо, щоб використаний метод дозволив отримати максимальну кількість продукту за короткий час з використанням мінімальної кількості екстрагента, що дозволить зменшити споживання електроенергії та здатністю мінімізувати будь-яке потенційне зниження вмісту активних компонентів. Кожен із існуючих методів екстракції має свої переваги і недоліки, тому технологами продовжуються пошуки нових методів одержання екстрактів, при яких вдалося б максимально виснажити ЛРС і отримати екстракти з максимально можливою кількістю БАР і мінімальними виробничими затратами. До сучасних поширених методів екстракції можна віднести екстракцію надкритичною рідиною; мікрохвильову екстракцію; ультразвукову екстракцію; екстрагування





прискоренням екстрагента; екстракцію гарячою водою.

Екстракція гарячою водою належить до тієї ж категорії, що й процес екстрагування прискоренням екстрагента. Однак в даному методі використовується гаряча вода для екстрагування замість органічного розчинника, що призводить до зниження експлуатаційних витрат, оскільки вода є дешевшим екстрагентом. З нею також порівняно легше працювати і вона становить відносно меншу екологічну небезпеку. Вода є ефективною для екстрагування деяких ефірних олій, з яких потім є можливість виділяти найцінніші антиоксиданти у високій концентрації (~ 90 %) і за коротший час.

Вибір методу екстракції залежить від природи (стабільність, розчинність тощо) та кількості матеріалу, що планується вилучати. Для великих об'ємів слід враховувати можливість екстрагування у великих масштабах. Метод екстракції повинен дозволити максимально виснажити сировину. Він повинен бути швидким, простим, економічним, екологічним і відтворюваним. Для термостійких компонентів можна використовувати екстракцію в апараті Сокслета або відгонку в киплячій воді. Температуру протягом всього процесу екстракції слід контролювати та реєструвати. Тривалість екстрагування залежить від мети, з якою проводиться вилучення, та характеру БАР. Недостатній час призведе до неповного вилучення, але при надто тривалому процесі екстрагування можуть надмірно вилучатися небажані компоненти та/або руйнуватися БАР. Кількість повторних циклів екстрагування, необхідних для повного виснаження бажаних компонентів, настільки ж важлива, як загальна тривалість екстракції, що слід контролювати та реєструвати. Застосування нових технологій в процесі вилучення БАР дозволяють одержувати доброякісні та ефективні лікарські засоби на основі ЛРС.

Вченими встановлено, що екстракційний витяг фенольних компонентів з лікарських трав родини, наприклад, Губоцвіті проводять з використанням мацерації, ультразвукового вилучення, екстракції під тиском. Різноманітність застосовуваних процедур вилучення фенольних компонентів з шавлії лікарської та інших рослин даної родини також не призводить до встановлення єдиного і ефективного підходу до їх екстракції. Причому, рекомендації з вилучення фенольних кислот і флавоноїдів, викладені в фармакопеях не дозволяють прийти до єдиного рішення даної проблеми. Це пов'язано з фокусуванням уваги авторів даних нормативних документів на компонентах ефірного масла, отриманого з сировини зазначеного вище сімейства. Для витягу фенольних кислот и флавоноїдів можливо застосування води, наприклад, з проб меліси лікарської. При цьому вибір в якості екстрагенту води очищеної є економічно виправданим.

Авторами (Темердашев З. А., Милевская В. В., Киселева Н. В., Верниковская Н. А. та ін.) проведений пошук по порівняльній оцінці екстракційної ефективності різних видів екстракції на прикладі шавлії *Salvia officinalis* L. В якості екстрагента використовували воду, нагріту до 100 °С. паралельно готували екстракти із застосуванням методу мацерації, ультразвукового впливу і гідродистілляції. Субкритична вода показала більшу ефективність в порівнянні з метанолом і 70% етанолом, а також



гідродистилляцією. Причому на отримання екстракту було витрачено меншу кількість часу, ніж із застосуванням традиційних способів вилучення.

Розробка способів екстракції фенольних речовин з лікарської сировини при підвищених температурі і тиску є перспективним напрямком. Але при значному підвищенні температури можливе зменшення концентрацій визначених компонентів в екстрактах трав родини Глухокропивої (материнка звичайна) внаслідок їх можливої деструкції. Тому розробка технології отримання екстракту методом водної екстракції є цікавим вирішенням питання раціоналізації процесу екстракції.

### **Заключення та висновки**

Результат прогнозування представлений у вигляді списку активностей з наближенням  $P_a$  і  $P_i$ , який побудований у порядку зменшення залежності  $(P_a - P_i) > 0$ . За допомогою програмного забезпечення PASS здійснено прогнозування протисудомної активності окремих сполук, що входять до складу ЛРС. Виявлено високі індекси протисудомної активності для алкалоїду протопіну, флавоноїду рутину, фумарової кислоти переважно за рахунок взаємодії з ГАМК рецепторами.

Використання сухого екстракту в формі твердих желатинових капсул покращить спосіб його застосування, вплине на дозування та раціональність використання лікарської рослинної сировини. З метою отримання комплексу БАР – в якості екстрагенту запропоновано використовувати воду очищену; для прискорення масооб'ємних процесів - застосовувати перемішування та відповідний оптимальний температурний режим настоювання.

Фармакотерапія неврологічних станів, дослідження протисудомних властивостей рослинної сировини Рутки Шлейхера, Півонії незвичайної, материнки звичайної - є важливим етапом для отримання нового лікарського засобу для боротьби з епілепсією.

### **Література**

1. Скринінгове дослідження протисудомної активності сухих екстрактів із 8 видів рослин родин Solanaceae, Papaveraceae, Lamiaceae та Polemoniaceae / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгіянц. *Клінічна фармація*. 2012. № 4. С. 47–50.
2. Експериментальне визначення спектра протисудомної дії перспективних антиконвульсантів рослинного походження / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко, Е. Л. Торянік. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 3. С. 45–49.
3. Белей С.Я., Грошовий Т.А. Вивчення оптимальних умов екстрагування та одержання сухого екстракту подорожника ланцетовидного. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С. 22-25.
4. Васенда М.М. Сучасний стан виробництва фітопрепаратів *Фармацевтичний часопис*. 2013. № 4. С. 143-146.
5. Шульга Л.І., Стороженко І.П. Математичне планування як етап розробки складу і технології фітотерапевтичного засобу. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 2. С. 68-72.



6. Роговський В. С., Шмановський Н. Л. Матюшин А. И.

Антигипертензивная и нейропротекторная активность кверцетина и его производных. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2012. Т. 75. № 9. С. 37-41.

7. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development / M. F. N. Meeran et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2017. № 8. P. 380–387.

8. The anticonvulsant and anti-plasmid conjugation potential of *Thymus vulgaris* chemistry: An in vivo murine and in vitro study / K. Skalicka-Woźniak, M. Walasek, T. M. Aljarba, P. Stapleton. *Food and chemical toxicology*. 2018. № 120. P. 472–478.

9. Луцак І. В., Степанова С. І., Штриголь С. Ю. Фітоадаптогени: біологічно активні речовини та механізми дії. Фітотерапія. *Часопис*. 2015. № 4. С. 7–18.

10. Лікарські рослини, що мають седативну, анксиолітичну та спряжені види фармакологічної активності, їх біологічно активні речовини та механізми їхньої дії / С. А. Данилов, О. В. Товчига, С. І. Степанова, С. Ю. Штриголь. *Фармаком*. 2011. № 4. С. 68–87.

11. The effects of herbal medicine on epilepsy/W. Liu, T. Ge, Z. Pan, Y. Leng. *Oncotarget*. 2017. № 8. P. 48385–48397.

**Abstract.** *The main principle of pharmacocorrection of neuroses is the prescription of sedatives, anxiolytics, of which the best use of herbal medicines, because they have fewer side effects. Using the PASS software, the prediction of the anticonvulsant activity of individual compounds that include the MPM was carried out. High indices of anticonvulsant activity were found for protopine alkaloid, rutin flavonoid, fumaric acid, mainly due to interaction with GABA receptors. The development of a technology for obtaining the extract by the method of aqueous extraction is an interesting solution to the problem of streamlining the extraction process.*

**Key words:** *anticonvulsant activity, pharmacotherapy, epilepsy, extraction.*