

**Descriere:**

Invenția se referă la domeniul medicinei și poate fi aplicată în tratamentul hepatitelor.

În medicină sunt cunoscute preparatele Legalon (Carsil, Silibinină, Silimarină), Silibor din planta Armurariul (*Silybum merianum* L.) folosite în tratamentul tuturor formelor de hepatită și ciroze hepatice. Aceste preparate, cu excepția Siliborului, conțin flavona Silimarină. Siliborul conține suma flavonelor acestei plante. Pe lângă efectul hepatoprotector, preparatele enumerate manifestă unele reacții adverse. Toate remediile ce conțin silimarină pot provoca reacții alergice grave, cauzează colestază [1].

Este cunoscută eficacitatea citoprotectoare și dezintoxicantă a Siliborului, mai pronunțată decât la Legalon (Carsil), Liv-52 [2].

Cel mai aproape de remediul revendicat este Siliborul, mai eficient decât alte preparate obținute din *Silybum merianum* L., dar având aceleași neajunsuri [3].

Problema pe care o rezolvă invenția este de a trata eficient hepatitele cu ajutorul extractului din rădăcină de tătăneasă (*Symphytum officinalis*).

Invenția prezintă un remediu pentru tratamentul hepatitelor, ce conține extract obținut din rădăcini de tătăneasă (*Symphytum officinalis*). Rădăcinile de tătăneasă conțin alcaloizi pirolizidinici, simfitină, simfitocinoglosină, laziocarpină, glucoalcaloidul - consolidină, precum și alantoină, substanțe tanante.

Cercetările au început cu determinarea toxicității acute a extractului din rădăcină de tătăneasă pe șoareci și șobolani. Toxicitatea acută ( $DL_{50}$ ) a fost determinată statistic după metoda lui G. Frumin (1991).

Pentru șoareci (50 de animale):

$DL_{50}$  intraperitoneal =  $2,259 \pm 3,610$  g/kg corp,

$DL_{50}$  per os =  $13,125 \pm 1,851$  g/kg corp.

Pentru șobolani dozele de până la 30 g/kg corp nu provoacă nici efecte toxice, nici moartea lor. Concluzie: pentru ei extractul este practic netoxic.

Pentru efectuarea screening-ului în scopul determinării dozei optime în tratamentul hepatitelor toxice au fost expuși experienței 25 de șobolani. Animalele au fost împărțite în 2 grupuri: animale intacte și animale intoxicate cu soluție uleioasă de 50%  $CCl_4$  în doză de 2 g/kg corp subcutanat zilnic, timp de 4 zile. Animalele intoxicate au fost divizate în 7 loturi și tratate concomitent cu extract de tătăneasă per os în următoarele doze (g/kg corp): 0,0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2. Animalele au fost întreținute în condiții identice.

La sfârșitul experienței animalele au fost decapitate în condiții eutanazice și s-au determinat următorii indici: alanin-aminotransferaza (AL-AT) – markerul principal al citolizei hepatocitelor și cantitatea lipidelor hepatice.

Rezultatele sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1

Nr.	Lotul de animale	AL-AT, mmol/l	Lipidele hepatice, mg/g
1	Intacte	1,16	28
2	Hepatită tratată cu extract din tătăneasă în doză de mg/kg corp: 0,0	4,03	46
3	0,1	3,63	53
4	0,2	2,51	42
5	0,4	3,41	38
6	0,8	1,60	25
7	1,6	2,70	45
8	3,2	3,70	40

Se observă un efect mai vădit la doza de 0,8 atât a lipidelor hepatice, cât și a AL-AT serice.

Concluziile cercetării morfologice a porțiunilor de ficat luate la expertiză denotă efectul hepatoprotector al extractului de tătăneasă mai pronunțat în dozele (g/kg corp): 0,1; 0,2; 3,2.

Drept doză optimă în cercetările ulterioare se ia doza de 0,4 g/kg corp, deoarece se provoacă hepatită cronică urmată de tratament mai îndelungat.

Deci următoarea etapă a constituit cercetarea efectului hepatoprotector al extractului de tătăneasă în hepatita cronică. Conform datelor din literatura de specialitate, hepatita cronică se obține, intoxicând animalele două luni cu  $CCl_4$  în doză de 2,0 g/kg corp subcutanat [4].

În experiență au fost incluși 75 de șobolani. Animalele au fost divizate în două loturi:

I lot - tratate concomitent cu administrarea  $CCl_4$ ;

al II-lea lot - tratate după provocarea hepatitei.

Animalele din I lot au fost împărțite, la rândul lor, în 4 grupe:

I grup - intoxicate și tratate cu tătăneasă în doză de 0,4 g/kg corp,

al II-lea grup - intoxicate și tratate cu Silibor (0,03 g/kg corp),

al III-lea grup - intoxicate și netratate,

al IV-lea grup - animale intacte.

Drept preparat de referință servește Siliborul în doză de 0,03 g/kg corp administrat per os [5]. Șobolanii erau intoxicați de două ori pe săptămână cu  $CCl_4$  în ulei vegetal (1:1) în doză de 2,0 g/kg corp subcutanat. I grup primea zilnic per os extract de tătăneasă dizolvat în ser fiziologic. Doza soluției era de 2 ml/100 g masă corporală, ceea ce corespunde unei cantități de 0,4 g/kg extract dens.

Grupul al II-lea primea în fiecare zi Silibor dizolvat în ser fiziologic per os 2,0 ml/100 g corp, ceea ce corespunde la 0,03 g/kg corp.

Grupului al III-lea i se administra ser fiziologic în aceeași cantitate.

O jumătate din numărul de animale a fost supusă decapitării și s-a recoltat sânge pentru probele biochimice - alaninaminotransferaza (AL-AT), proteinele serice, ureea, a fost determinată cantitatea de lipide hepatice (tab. 2).

Tabelul 2

Nr.de ani-male	Grupul	AL-AT, mmol/l	Ureea, mmol/l	Proteinele serice, g/l	Lipidele hepatice, mg/g
1	Tătăneasă (1)	1,20	4,1	80,1	101
2		1,60	3,8	80,1	105
3		1,28	5,3	80,1	112
4		2,24	4,1	78,2	121
5		1,52	4,1	81,7	115
6		1,44	4,4	78,2	110
7		1,28	3,8	73,6	109
8		1,52	5,9	72,5	59
	x	1,51	4,4375	78,0625	104,6
	SD	0,3057777	0,7595818	3,3075412	19
	m	0,1155731	0,2870949	1,050133	6,7
			$P_{1-3}<0,01$		
1	Silibor (2)	3,36	6,5	71,3	112
2		1,68	4,1	57,5	126
3		1,04	5,3	82,8	98
4		0,72	5,3	82,8	113
	x	1,70	5,3	73,6	112
	SD	1,1764353	0,9797959	12,024697	11,5
	m	0,6792152	0,4898979	6,942462	5,7
			$P_{2-3}<0,05$		
1	Netratate (3)	2,08	5,0	60,1	226
2		2,88	5,3	75,9	163
3		1,58	5,8	80,1	109
4		1,20	8,2	66,7	113
5		2,48	7,6	73,6	140
	x	2,044	6,38	71,88	138
	SD	0,6741513	1,4324804	8,240267	50,8
	m	0,3370757	0,7162402	4,120133	22
1	Intacte (4)	0,80	5,3	73,6	66
2		0,72	5,9	71,3	83
3		0,42	6,5	80,1	63
4		0,96	5,3	73,6	67
5		0,72	5,3	82,8	81
	x	0,72	5,66	76,34	72
	SD	0,1961632	0,5366563	4,8309419	9,3
	m	0,0980816	0,2683281	2,4154709	4,1

După cum se vede din tabelul 2, extractul de tătăneasă manifestă efect hepatoprotector asemănător Siliborului (ureea  $P_{1-3}<0,01$ ;  $P_{2-3}<0,05$ ).

Peste două săptămâni de tratament au fost sacrificate animalele rămase. Rezultatele probelor biochimice și cantitatea lipidelor hepatice sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3

Nr. de animale	Grupul	AL-AT, mmol/l	Ureea, mmol/l	Proteinele serice, g/l	Lipidele hepatice, mg/g
1	Tătăneasă (1)	4,16	5,0	75,9	74
2		3,52	5,0	78,2	109
3		3,20	8,4	77,1	84
4		1,12	5,0	78,2	101
5		1,60	5,5	79,4	140
6		2,24	5,0	75,9	124
7		1,20	5,5	79,4	107
	x	2,43	5,64	77,7	106
	SD	1,206079	1,2434592	1,4784226	22
	m	0,4558455	2,1327995	0,5587912	8,5

$P_{1-3}<0,02$   $P_{1-3}<0,001$

1	Silibor (2)	1,36	6,8	69,0	196
2		3,52	10,0	77,1	85
3		3,68	6,4	78,2	110
4		1,20	6,1	78,2	85
5		1,28	5,0	70,2	67

	x	2,208	6,86	74,54	108
	SD	1,273221	1,8782971	4,551703	51
	m	0,5694067	0,84	2,035583	22

$P_{2,3}=0,1$   $P_{2,3}>0,05$

1	Netratate (3)	2,08	7,7	72,5	186
2		2,56	6,8	69,0	131
3		5,10	8,4	71,3	106
4		3,52	11,1	66,7	133
5		3,20	6,9	65,6	155
	x	3,29	8,18	69,02	148
	SD	1,1547814	1,756986	2,932064	29
	m	0,516433	0,785748	1,311258	0,7
1	Intacte (4)	0,32	4,4	78,2	81
2		0,88	3,84	78,2	66
3		1,28	4,4	80,1	64
4		1,44	4,7	71,3	76
5		1,12	3,6	78,1	76
6		1,44	3,8	80,1	75
7		1,36	4,4	80,1	80
	x	1,12	4,17	78,02	74
	SD	0,4052982	0,4029653	3,1154026	6,4
	m	0,1523066	0,1531883	1,1775115	2,4

Analizând datele obținute, ajungem la următoarele concluzii: extractul de tătăneasă are efect hepatoprotector mai pronunțat decât Siliborul. Pentru tătăneasă ureea  $P_{1,3}<0,02$ , proteinele serice  $P_{1,3}<0,001$ , dar la Silibor ureea  $P_{2,3}=0,1$ , proteinele serice  $P_{2,3}>0,05$ .

La rândul său, lotul al II-lea a fost împărțit în următoarele grupe:

I grup - animale intoxicate (2 luni) și tratate cu tătăneasă în doză de 0,4 g/kg corp;

al II-lea grup - animale intoxicate (2 luni) și tratate cu Silibor în doză de 0,03 g/kg corp;

al III-lea grup - animale intoxicate și netratate;

al IV-lea grup - animale intacte.

Șobolani au fost intoxicați cu  $CCl_4$  în doză de 2,0 g/kg corp subcutanat timp de două luni. După încetarea administrării  $CCl_4$  a început perioada de tratament de două săptămâni.

Animalele din grupul I primeau zilnic per os extract de tătăneasă în doză de 0,4 g/kg corp;

grupul al II-lea - per os Silibor în doză de 0,03 g/kg corp;

grupul al III-lea - per os ser fiziologic în aceeași cantitate;

grupul al IV-lea - animale sănătoase cărora li se administra, de asemenea, per os ser fiziologic (2 ml/100 g).

După decapitarea animalelor a fost recoltat sânge pentru probe. Rezultatele sunt date în tabelul 4.

Tabelul 4

Nr. de animale	Grupul	AL-AT, mmol/l	Proteinele serice, g/l	Lipidele hepatice, mg/g	Toxinele proteice	
					$\lambda_{254}$	$\lambda_{280}$
1	Tătăneasă (1)	1,28	71,3	57	123	165
2		1,76	78,2	98	115	170
3		1,60	75,9	67	120	200
4		1,44	69,0	81	105	170
5		1,76	78,2	79	125	215
6		1,60	75,9	60	155	210
	x	1,57	74,7	74	123	188
	SD	0,1870473	3,1792856	0,15	16,857249	22,509265
	m	0,763617	1,5428869	6	6,881943	9,189369
		$P_{1,3}<0,01$		$P_{1,3}<0,01$	$P_{1,3}<0,001$	$P_{1,3}<0,001$
1	Silibor (2)	1,44	75,9	86	110	165
2		1,20	71,8	66	100	155
3		2,08	67,8	101	130	210
4		2,56	75,9	99	135	150
	x	1,82	72,8	88	118	170
	SD	0,6175219	3,8603497	16	16,52019	27,386128
	m	0,308761	1,9301749	8	8,260095	13,693064
		$P_{2,3}>0,05$	$P_{2,3}>0,05$		$P_{2,3}<0,001$	
1	Netratate (3)	2,24	69,0	97	270	420
2		2,08	95,9	144	305	430
3		1,92	69,0	106	275	400

4		1,76	64,4	155	330	470
	x	2,00	69,5	125	300	430
	SD	0,2065591	4,741575	2,8	36,742346	29,439203
	m	0,1032796	2,3707875	0,5	18,321173	14,719602
1		0,32	78,2	81		
2		0,88	78,2	66		
3		1,28	80,1	64		
4		1,44	78,2	76		
5		1,12	80,1	76		
6		1,44	80,1	75		
7		1,36		80		
	x	1,12	78,0	74		
	SD	0,4052982	3,1154026	6,4		
	m	0,1531883	1,1775115	0,03		

Concluziile sunt identice cu cele precedente: extractul din rădăcina de tătăneasă manifestă efect hepatoprotector demonstrat experimental ( $P_{1-3} < 0,01$ ,  $P_{2-3} > 0,05$  pentru alaninaminotransferază;  $P_{1-3} < 0,001$ ,  $P_{2-3} < 0,001$  pentru toxinele proteice I254 și cores-punzător I280  $P_{1-3} < 0,001$ ,  $P_{2-3} < 0,001$ ).

#### Exemple experimentale concrete

##### Exemplul 1

Extractul a fost obținut din rădăcini de tătăneasă (*Symphytum officinalis*) cultivate la Grădina Botanică a AȘ a Republicii Moldova. Rădăcinile au fost spălate și tăiate în formă de cubușoare cu latura de cca 5 mm. Rădăcinile mărunțite au fost uscate la umbră într-o încăpere bine aerisită. Extracția s-a efectuat în etanol 70% prin macerare. În vasul cu rădăcinile mărunțite (1 kg) s-a adăugat extragentul etanol 70% (10 000 ml). Vasul a fost închis bine și lăsat la temperatura de 20°C timp de două săptămâni. Conținutul vasului se agita periodic. Lichidul înlăturat s-a filtrat. Etanolul a fost recuperat în instalația de evaporare cu rotor. S-a obținut un extract dens cu masa de 305 g.

##### Exemplul 2

Experiență cu hepatită cronică pentru I lot tratat concomitent cu intoxicația. I grup - tratat zilnic cu extract dens de tătăneasă dizolvat în ser fiziologic. Volumul soluției administrate per os era de 2 ml/100 g corp, ceea ce corespunde unei cantități de 0,4 g/kg extract dens.

Grupul al II-lea primea în fiecare zi per os Silibor dizolvat în ser fiziologic 2,0 ml/100 g, ceea ce corespunde la 0,03 g/kg corp.

Grupul al III-lea primea ser fiziologic 2,0 ml/100 g corp concomitent cu administrarea  $CCl_4$  timp de două luni.

Grupului al IV-lea (animale intacte) i se administra per os ser fiziologic 2,0 ml/100 g corp timp de două luni.

Prima jumătate din numărul de animale (peste două luni) a fost sacrificată și s-au determinat următorii indici: alaninaminotransferaza, proteinele serice, ureea, lipidele hepatice prezentate în tabelul 2.

Peste două săptămâni de tratament au fost sacrificate animalele rămase. Rezultatul probelor biochimice și cantitatea lipidelor hepatice sunt date în tabelul 3.

##### Exemplul 3

Pentru lotul al II-lea (animale tratate peste două luni - termenul de otrăvire) s-au efectuat următoarele acțiuni:

I grup - animale intoxicate cu  $CCl_4$  în doză de 2,0 g/kg corp subcutanat (se administrează soluție uleioasă de 50%  $CCl_4$  4 ml/kg) de două ori pe săptămână timp de două luni. După încetarea otrăvirii a început perioada de tratament, care durează două săptămâni, cu extract dens de tătăneasă dizolvat în ser fiziologic 2,0 ml/100 g corp, ceea ce corespunde unei cantități de 0,4 g/kg extract administrat per os;

al II-lea grup - animale intoxicate două luni și tratate cu Silibor dizolvat în ser fiziologic 2,0 ml/100 g masă corporală, ceea ce corespunde unei cantități de 0,03 g/kg administrat per os;

al III-lea grup - animale intoxicate două luni cu soluție uleioasă de 50%  $CCl_4$  4 ml/kg subcutanat de două ori pe săptămână. După încetarea otrăvirii șobolanii primeau în fiecare zi (2 săptămâni) ser fiziologic 2,0 ml/100 g per os;

al IV-lea grup - animale sănătoase (intacte) primeau, la rândul lor, ser fiziologic 2,0 ml/100 g per os. Termenul administrării constituia două săptămâni.

După decapitarea animalelor a fost recoltat sânge pentru determinarea alaninaminotransferazei, proteinelor serice, toxinelor proteice și a fost aflată cantitatea grăsimilor hepatice. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.