Стандартизация сухого экстракта с противовоспалительными и анальгетическими свойствами из листьев *Arctium tomentosum* Mill.

Дудко В.В.¹, Хоружая Т.Г.¹, Пашинский В.Г.², Поветьева Т.Н.², Новожевьева Т.П.², Коршунова Н.Е.²

Standardization of the dry extract having anti-inflammatory and analgesic properties from the leaves *Arctium tomentosum* Mill.

Dudko V.V., Khoruzhaya T.G., Pashinsky V.G., Povetyeva T.N., Novozheyeva T.P., Korshounova N.Ye.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, г. Томск

© Дудко В.В., Хоружая Т.Г., Пашинский В.Г. и др.

Исследование посвящено проблеме получения сухих и жидких экстрактов из листьев лопуха войлочного (*Arctium tomentosum* Mill.) на 25-, 40- и 70%-м этаноле и их стандартизации. Предложен разработанный оптимальный состав таблетированной лекарственной формы на основе сухого экстракта на 70%-м этаноле. В эксперименте на животных выявлена антиэкссудативная активность сухого экстракта на 70-, 40- и 25%-м этаноле, анальгетическая активность сухого экстракта на 70- и 25%-м этаноле, ранозаживляющее действие сухого экстракта на 25%-м этаноле.

Ключевые слова: сухой экстракт листьев лопуха войлочного, стандартизация, противовоспалительные, анальгетические, ранозаживляющие свойства.

The work is devoted to the problems of obtaining dry and liquid extracts from the leaves of *Arctium tomentosum* Mill. on 25, 40, and 70% ethanol solution and their standardization. Optimal content of tablet drug form based on the dry extract on 70% ethanol is offered. Animal experiments revealed anti-exudative activity of the dry extract of *Arctium tomentosum* Mill. on 70, 40 and 25% of ethanol solution, analgesic activity of the dry extract on 70 and 25% of ethanol solution, wound healing action of the dry extract on 25% of ethanol solution.

Key words: dry extracts from the leaves of *Arctium tomentosum* Mill., standardization, anti-inflammatory, analgesic, wound healing properties.

УДК 616.072:615.276:615.212:582.998

Лопух войлочный (*Arctium tomentosum* Mill., семейство *Asteraceae*) — двулетник высотой до 60 см. Во флоре Западной Сибири этот вид широко распространен. Он встречается как сорное растение на пустырях, около жилья, в огородах, вдоль дорог. В народной медицине основные виды рода лопух (*Arctium* L.) (*A. tomentosum* Mill. — лопух войлочный, *A. lappa* L. — лопух репейник и *A. minus* (Mill.) Bernh. — лопух малый) используются по одинаковым показателям без различия по видам. Листья по сравнению с корнями имеют более ограниченное применение. Они используются наружно при опухолях, ревматизме, рожистых воспалениях, внутрь — при злокачествен-

ных опухолях, заболеваниях печени, скрофулезе, диабете, тахикардии, а также как диуретическое, желчегонное, детоксикационное, ранозаживляющее, и при головной боли. Обладают антипротозойными свойствами [5]. В экспериментальных исследованиях выявлена ранозаживляющая и умеренная противовоспалительная активность экстрактов из корней и листьев лопуха войлочного [4]. Литературных сведений, касающихся разработки лекарственных форм из листьев лопуха войлочного, за исключением сока [3], не обнаружено.

В задачу изучения входило проведение стандартизации жидких и сухих экстрактов из листьев лопуха

войлочного и таблетированных лекарственных форм на основе сухого экстракта, а также экспериментальное исследование фармакологической активности полученных средств.

Материал и методы

Материалом для изучения послужили листья лопуха войлочного, которые были заготовлены в окрестностях г. Томска на заброшенных сельскохозяйственных полях в период цветения в июле 1998 и 1999 гг.

Фармакологические исследования проводили на белых беспородных мышах массой 20—25 г (по 6 животных в каждой группе), полученных из коллекционного фонда отдела экспериментальных биологических моделей ТНЦ СО РАМН (г. Томск) (животные сертифицированы).

С целью изучения ранозаживляющих свойств мышам под эфирным наркозом наносили кожное повреждение в виде лоскутной раны (средний диаметр раны — 10 мм). Для моделирования длительного заживления струпы периодически снимали. Острое асептическое воспаление вызывали субплантарным введением мышам 1%-го раствора каррагинена в дозе 0,05 мл. Обезболивающее действие изучали на модели укусных корчей, индуцированных внутрибрюшинным введением мышам 0,75%-го раствора уксусной кислоты [6].

Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (г. Страсбург, 1986).

Результаты исследований обрабатывались методами непараметрической и параметрической статистики. Различия считались достоверно значимыми при $p_u < 0,05$ и $p_t < 0,05$ для количественных характеристик (метод Вилкоксона—Манна—Уитни и метод Стьюдента соответственно) [2].

Нормативные показатели экстрактов определяли по требованиям Государственной фармакопеи СССР (1989). Экстракт листьев жидкий (1 : 1) получали методом противоточного многоступенчатого экстрагирования, используя в качестве растворителя 25-, 40- и 70%-й этанол. Жидкие экстракты стандартизовали по сухому остатку, содержанию этанола, плотности, наличию при-

месей тяжелых металлов [1]. Для получения сухого экстракта растворитель удаляли под вакуумом и сушили при температуре 60 °С до остаточной влажности, не превышающей 5%. Стандартизацию проводили по содержанию влаги, тяжелых металлов согласно требованиям нормативной документации [1]. Для обоснования состава и технологии изготовления таблеток из сухого экстракта на 70%-м этаноле были изучены технологические свойства порошка: пористость, насыпная масса, фракционный состав, сыпучесть, угол естественного откоса. Для изготовления таблеток использовали метод влажной грануляции. При разработке прописи таблеток применяли такие вспомогательные вещества, как аэросил, молочный сахар, магния стеарат.

Результаты и обсуждение

При фармакологических испытаниях в первой серии экспериментов исследовали ранозаживляющую активность. Беспородные мыши-самки, используемые в эксперименте, получали сухой экстракт листьев 70 (экстракция 70%-м этанолом), сухой экстракт листьев 40 (экстракция 40%-м этанолом), сухой экстракт листьев 25 (экстракция 25%-м этанолом). Для сопоставления фармакологической активности все препараты вводились в одной дозе — 50 мг на 1 кг массы тела в лечебном режиме: через 1 ч после нанесения кожного повреждения, затем ежедневно однократно до момента заживления. Растительные средства вводились внутрижелудочно. Измерение раны проводили сразу же после снятия струпа, длительность наблюдения — 20 дней. У контрольных животных ($n = 10$) полное заживление ран наблюдали на 20-е сут. Существенную активацию регенерации вызвал сухой экстракт листьев 25 — уже с 5-х сут раны в 1,2 раза были меньше контрольных, а на 15-е сут отмечалось их полное заживление у всех животных, т.е. сроки регенерации сокращались на 28,6% (рис. 1).

Рис. 1. Влияние сухих экстрактов листьев *Arctium tomentosum* Mill. на заживление лоскутной раны: * — различия статистически достоверны в сравнении с контролем при $p_u < 0,05$, $p_t < 0,05$

На модели острого асептического воспаления, вызванного каррагенином, сравнивали противовоспалительное действие сухого экстракта листьев 70, сухого экстракта листьев 40, сухого экстракта листьев 25. Растительные средства вводились в превентивном режиме курсом в течение 5 дней, в последний день через 1 ч после фитопрепарата вводился каррагенин. Существенное противоотечное действие на этой модели оказал сухой экстракт листьев 40, так как все три дозы препарата были эффективными, наибольший противоэкссудативный эффект при введении его в дозе 50 мг на 1 кг массы тела — 37% торможения прироста веса лапки в сравнении с контрольными жи-

вотными (табл. 1). Волнообразный характер противовоспалительных эффектов наблюдался у сухого экстракта листьев 25: на 29% снижался отек под действием препарата в дозах 100 и 10 мг на 1 кг; отсутствие эффекта в дозах 50 и 1 мг на 1 кг массы тела. Сухой экстракт листьев 70 в дозе 50 мг на 1 кг массы тела на 26,8% снижал экссудативное действие флогогена.

При изучении обезболивающей активности установлено, что под влиянием сухого экстракта листьев 70 в дозе 50 мг на 1 кг массы тела на 32,5% сокращалось количество корчей у мышей (рис. 2). Наиболее выраженный анальгетический эффект на этой модели выявлен у особей, которым вводили сухой экстракт листьев 25 в дозе 50 мг на 1 кг массы те-

ла — до 34,5%, т.е. количество корчей сокращалось в 12 раз.

Для получения лекарственных форм использовали измельченное сырье — порошок листьев, проходивший сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм. Были получены следующие нормативные показатели порошка листьев: влажность — $(8,8 \pm 0,3)\%$; зола: общая — $(12,9 \pm 1,6)\%$, нерастворимая в хлороводородной кислоте — $(4,2 \pm 0,3)\%$; экстрактивные вещества, извлекаемые водой, — $(13,4 \pm 0,1)\%$; 25%-м этанолом — $(9,3 \pm 0,2)\%$, 40%-м этанолом — $(12,3 \pm 0,1)\%$; 70%-м этанолом — $(10,7 \pm 0,2)\%$.

Таблица 1

Влияние сухих экстрактов из листьев *Arctium tomentosum* Mill. на острое каррагениновое воспаление ($X \pm m$)

Группа животных	Доза, мл на 1 кг массы тела	Число животных	Прирост веса лапки, %
Контроль	—	10	$60,1 \pm 4,4$
Получавшая сухой экстракт 70	50	6	$44,0 \pm 3,4^*$
Получавшая сухой экстракт 40	100	6	$52,0 \pm 5,3$
	50	6	$37,7 \pm 2,5^*$
	10	6	$44,7 \pm 7,9^*$
	1	6	$44,5 \pm 4,2^*$
Получавшая сухой экстракт 25	100	6	$42,7 \pm 5,8^*$
	50	6	$51,8 \pm 5,5$
	10	6	$42,8 \pm 5,6^*$
	1	6	$52,7 \pm 5,8$

* Различия статистически достоверны в сравнении с контролем при $p_u < 0,05$, $p_t < 0,05$.

Рис. 2. Анальгетическая активность сухих экстрактов листьев *Arctium tomentosum* Mill. на модели укусовых корей: 1 — контроль; 2 — сухой экстракт 70; 3 — сухой экстракт 40; 4 — сухой экстракт 25; * — различия статистически достоверны в сравнении с контролем при $p_u < 0,05$, $p_t < 0,05$

При стандартизации жидких экстрактов (табл. 2) установлено, что наибольшее содержание экстрактивных веществ обнаружено при экстрагировании 40%-м этанолом — $(11,5 \pm 0,4)\%$, далее следует 70%-й — $(8,7 \pm 0,6)\%$ и наименьший выход получен при экстрагировании 25%-м этанолом — $(5,3 \pm 0,3)\%$. Плотность колебалась от $(0,94 \pm 0,02)$ г/см³ в случае применения 70%-го этанола до $(0,97 \pm 0,01)$ и $(0,98 \pm 0,02)$ г/см³ — в случае 25- и 40%-го соответственно. По содержанию этанола жидкие экстракты удовлетворяли требованиям на экстракты экстрагентами аналогичной концентрации [1], содержание тяжелых металлов не превышало 0,01%.

Таблица 2

Стандартизация жидкого и сухого экстрактов из листьев *A. tomentosum* (экстрагент — этанол)

Показатель	Жидкий экстракт			Сухой экстракт		
	25%-й	40%-й	70%-й	25%-й	40%-й	70%-й
Сухой остаток, %	$5,30 \pm 0,30$	$11,50 \pm 0,40$	$8,70 \pm 0,60$	—	—	—
Этанол, %	$23,20 \pm 0,10$	$37,10 \pm 0,30$	$68,20 \pm 0,20$	—	—	—
Плотность, г/см ³	$0,98 \pm 0,02$	$0,97 \pm 0,01$	$0,94 \pm 0,02$	—	—	—
Влажность, %	—	—	—	$4,7 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,2$
Выход:						
по отношению к сырью	1 : 1	1 : 1	1 : 1	—	—	—
по отношению к жидкому экстракту	—	—	—	$5,3 \pm 0,3$	$11,5 \pm 0,4$	$8,7 \pm 0,6$

Сухие экстракты после измельчения представляли собой сыпучие порошки светло-коричневого (25-й и 40%-й этанол) и темно-коричневого (70%-й этанол) цвета. Влажность составляла $(2,2 \pm 0,2)$, $(3,8 \pm 0,3)$, $(4,7 \pm 0,2)\%$ для 70-, 40- и 25%-го этанола соответственно. По содержанию влаги и тяжелых металлов сухие экстракты удовлетворяли требованиям нормативной документации [1] (табл. 2).

При исследовании технологических свойств порошка сухого экстракта на 70%-м этаноле (табл. 3) установлено, что порошок полидисперсный и содержит фракции от 0,25 до 1 мм в количестве $(85,0 \pm 1,3)\%$, пылевидной фракции не более 15%, что оказывает существенное влияние на сыпучесть таблетуемого материала, точность дозирования и возможность использования метода прямого прессования для таблетирования массы.

Сыпучесть порошка характеризуется как отличная, насыпная масса как среднетяжелая, пористость составляет не более $(40,0 \pm 0,4)\%$.

Полученный порошок использовали при изготовлении таблеток. Из семи исследованных прописей таблеток

Таблица 3

Технологические показатели порошка сухого экстракта (экстрагент — 70%-й этанол) листьев *A. tomentosum*

Показатель	Порошок сухого экстракта
Размер отверстий сита, мм:	Фракционный состав, %
–3,0+2,0	$0,50 \pm 0,10$
–2,0+1,0	$2,50 \pm 0,20$
–1,0+0,5	$36,00 \pm 0,10$
–0,5+0,25	$45,50 \pm 0,20$
0,25+0,1	$8,00 \pm 0,30$
–0,1	$6,50 \pm 0,10$
Насыпная масса, г/см ³	$0,66 \pm 0,03$
Сыпучесть, г/с	$12,50 \pm 0,60$
Угол естественного откоса, град	$28,00 \pm 0,20$
Пористость, %	$40,00 \pm 0,40$

Примечание. «—» — сухой экстракт прошел через данный размер сита; «+» — сухой экстракт остался на сите.

требованиям нормативной документации [1] (по внешнему виду, распадемости, отклонению от средней массы, прочности на истирание) удовлетворяли только две, состав и оценка качества которых представлены в табл. 4, 5.

Т а б л и ц а 4

Оптимальный состав таблеток с сухим экстрактом (экстрагент — 70%-й этанол) листьев *A. tomentosum*

Ингредиент	Пропись таблеток			
	1		2	
	г	%	г	%
Сухой экстракт	0,1000	33,330	0,1000	33,330
Молочный сахар (ВФС 42-3110-98)	0,1965	65,500	0,1940	64,670
Аэросил (ГОСТ 14922-77)	0,0025	0,835	0,0050	1,670
Магния стеарат (ТУ 6-09-129-75)	0,0010	0,335	0,0010	0,330
Масса порошка на одну таблетку	0,3000	100,0	0,3000	100,0

Т а б л и ц а 5

Оценка качества таблеток с сухим экстрактом листьев *A. tomentosum* (экстрагент — 70%-й этанол)

Показатель	Таблетки с сухим экстрактом		Требования ГФ XI
	Пропись 1	Пропись 2	
Распадаемость, мин	11,0 ± 0,2	12,0 ± 0,2	Не более 15
Прочность на истирание, %	97,7 ± 0,3	97,6 ± 0,1	Не менее 97
Отклонение в массе отдельных таблеток, г	0,3 ± 0,0101	0,3 ± 0,0093	Отклонения в средней массе до Менее 0,3 г до 7,5% Более 0,3 г до 5,0%

Пр и м е ч а н и е. ГФ XI — Государственная фармакопея. 11-е издание.

Заключение

Результаты исследований свидетельствуют о наличии фармакологической активности у сухих экстрактов, полученных из листьев лопуха войлочного. В экспериментах на животных выявлен противовоспалительный эффект сухих экстрактов на 70-, 40- и 25%-м этаноле, анальгетическое действие сухих экстрактов на 70- и 25%-м этаноле, ранозаживляющая активность сухого экстракта на 25%-м этаноле. Проведена стандартизация жидких и сухих экстрактов из листьев лопуха войлочного и таблетированных лекарственных форм на основе сухого экстракта.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. М., 1989. Вып. 1, 2. 400 с.
2. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. М.: Медицина, 1978. 293 с.
3. Копытько Х.Ф., Кирьянов А.А., Стихин Ю.В. и др. Состав летучих веществ и жидких кислот сока листьев лопуха войлочного // Хим.-фарм. журн. 2003. № 6. С. 46—47.
4. Поветьева Т.Н., Пашинский В.Г., Дудко В.В. и др. Противовоспалительные свойства сухих экстрактов из корней и листьев *Arctium tomentosum* Mill. // Раст. ресурсы. 2001. Т. 37. Вып. 2. С. 80—85.
5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство *Asteraceae*. СПб.: Наука, 1993. 352 с.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2000. 398 с.

Поступила в редакцию 27.06.2005 г.