

А.В. Гудзенко, О.Е. Ядловський, к. б. н.

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ СПИРТОВИХ ЕКСТРАКТІВ КУЛЬБАБИ ЛІКАРСЬКОЇ (*TARAXACUM OFFICINALE*)

Інститут фармакології та токсикології АМН України, м Київ

Останнім часом в розвинутих країнах Європи зростає впровадження ліків рослинного походження в клінічну практику як один із шляхів вдосконалення лікувального процесу, що обіцяє значні успіхи в збереженні здоров'я популяції. Для України використання таких підходів у медичній і фармацевтичній галузях сприятиме оздоровленню населення, підвищенню фармакоекономіки та збереженню біо-соціального потенціалу нації [2, 3, 22]. Саме тому зараз все більшу увагу вітчизняних дослідників привертають лікарські рослини, насамперед ті, які раніше застосовувалися лише в народній медицині та які є джерелом численних біологічно активних речовин [4, 23], зокрема кульбаба лікарська.

Кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*) — багаторічна трав'яниста рослина родини айстрових (складноцвітних), підземна частина (*Radix*) якої вже довгий час широко застосовується в медицині, але її надземна частина (квітки, листя) є ще недостатньо вивченою, хоча, згідно з даними літератури, містить велику кількість біологічно активних речовин [4, 16, 18, 19].

Раніше, з використанням методів спектрофотометрії та високоефективної рідинної хроматографії, нами було встановлено значний вміст у надземній частині кульбаби лікарської флавоноїдів, оксикоричних кислот, поліфенольних сполук та ін. [5, 12]. Було також проведено вивчення антирадикальних властивостей водних та спиртових екстрактів надземної частини кульбаби лікарської та виявлено, що між антирадикальною активністю та вмістом вищезазначених біологічно активних сполук існує позитивний корелятивний

зв'язок, що вказує на взаємопов'язаність цих показників [5].

Відомо, що під дією рослинних поліфенольних сполук, а також флавоноїдів, відбувається ефективне послаблення ексудативного компонента запальної реакції (спостерігається значне зменшення ексудації та набряку), яке може бути обумовлене антирадикальними властивостями [1, 20]. Тому представляло великий інтерес дослідити гостру токсичність та вивчити протизапальну дію екстрактів, виготовлених з надземної та підземної частини кульбаби лікарської.

Метою роботи було вивчення токсичності та протизапальних властивостей екстрактів надземної (листя, квітки) та підземної частини кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*).

Матеріали та методи дослідження

Робота була виконана на білих нелінійних мишах, які були виведені у віварії Інституту фармакології та токсикології АМН України (м.Київ) та стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками. Тварини, що використовувалися для проведення дослідження, знаходились в умовах віварію з вимогами санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні, та отримували їжу і воду *ad libitum* [6 — 9].

Дослідження гострої токсичності (LD_{50}) спиртових екстрактів квіток, листя та коріння кульбаби лікарської було проведено за методом [7, 17]. В якості референтного препарату рослинного походження використовували настоянку листя горіха грецького 20% ("Київська ФФ"). В експерименті були задіяні білі нелінійні миші-самці з масою

тіла 26 ± 2 г, яким внутрішньошлунково (за допомогою металевого зонду) вводили водно-спиртові розчини екстрактів, що досліджувались. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 діб. Реєстрували їх поведінку та масу тіла

Антиексудативні властивості водно-спиртових екстрактів кульбаби лікарської вивчали за методикою Ф.П. Тринуса та співавт. [20, 21]. Протизапальну активність вивчали на моделі відтворення гострого асептичного запалення у мишей, яке викликалось субплантарним введенням розчину карагеніну (карагеніновий набряк) [6, 10]. В якості референтного лікарського засобу окрім настоянки листя горіха грецького використовували диклофенак натрію, який вважається "золотим стандартом" при вивченні протизапальної активності.

Дослідні тварини були розподілені на 7 груп по 6 тварин у кожній: 1 група — контрольні тварини; 2 група — тварини отримували 40% водний розчин етанолу (етилового спирту); 3 група — водний розчин диклофенаку натрію (ефективна терапевтична доза 3,8 мг/кг); 4 група — настоянку листя горіха грецького, $1/10 LD_{50}$; 5 група — спиртовий екстракт листя кульбаби, $1/10 LD_{50}$; 6 група — водно-спиртовий екстракт квіток кульбаби у дозі $1/10 LD_{50}$; 7 — водно-спиртовий екстракт коріння кульбаби, $1/10 LD_{50}$.

Досліджувані розчини вводили перорально за 1 год до субплантарного введення 0,05 мл 1% розчину карагеніну (Sigma, USA) у праву лапку тварини. Через 3 год, тобто на максимумі запального процесу, мишей виводили з досліду (передозування ефірного наркозу) та проводили вимірювання параметрів, що характеризують антиексудативну активність. На рівні тазостегнових суглобів ампутували набряклі та інтактні задні стопи. Антиексудативну активність досліджуваних екстрактів визначали за їх здатністю зменшувати розвиток набряку у порівнянні з контролем та виражали у відсотках. Протизапальну активність екстрактів розраховували за формулою:

$$ПА = 100\% - \frac{M_{нд} - M_{зд}}{M_{нк} - M_{эк}} \cdot 100\%,$$

ПА - протизапальна активність, %; $M_{нд}$ - маса набряклої стопи в

досліді; $M_{зд}$ - маса здорової стопи в досліді; $M_{нк}$ - маса набряклої стопи в контролі; $M_{зк}$ - маса здорової стопи в контролі.

Статистичну обробку даних проводили, використовуючи t - критерій Ст'юдента [13 - 15].

Результати та їх обговорення. Отримані дані наведено в табл. 1. Визначення гострої токсичності настоек листя горіха грецького нами не проводилось, оскільки відомо, що при пероральному введенні настоянки листя горіха грецького експериментальним тваринам, виходячи із значень LD_{50} , вона відноситься до IV класу (за класифікацією Сидорова), тобто є малотоксичною сполукою. А саме: LD_{50} миші - 4252 (4718 - 3786) мг/кг, LD_{50} щури 6888 (6663 - 7113) мг/кг [11].

У тварин, які загинули в ході досліді, спостерігалось порушення дихання та зниження рухової активності. У тварин, що вижили, не було виявлено відмінності в споживанні їжі та маси тіла у порівнянні з контролем, у них зберігалися нормальні рефлекси, не виявлено відхилень в поведінці та клінічних симптомів інтоксикації. Шкірний покрив гладенький, блискучий, почервоніння, лущення, тріщин та ін. не спостерігалось.

Водно-спиртові екстракти надземної та підземної частин кульбаби лікарської за величиною LD_{50} при внутрішньошлунковому введенні відносяться до V класу токсичності

(практично нетоксичні речовини) за ГОСТ 12.1.007.76 [6].

Показники, які характеризують протизапальну активність досліджуваних екстрактів, наведені в табл. 2. Ці дані свідчать, що водно-спиртовий екстракт листя кульбаби лікарської виявляє вірогідну протизапальну активність (40,38 %). Спиртовому екстракту квіток кульбаби також притаманні протизапальні властивості (30,30 %), однак вони дещо менші, ніж у екстракту листя. Протизапальна активність водно-спиртового екстракту коріння рослини становить 21,7%, що поступається екстрактам надземної частини (листя та квіток).

На нашу думку, невелика антиексудативна активність водно-спиртового екстракту коріння кульбаби може бути обумовлена різним відсотковим вмістом ряду біологічно активних речовин - поліфенольних сполук, флавоноїдів, оксикоричних кислот, тощо [5, 18, 19].

Водно-спиртова настоянка листя горіха грецького виявляє протизапальну активність (43,4 %) на рівні водно-спиртового екстракту листя кульбаби.

За протизапальною дією водно-спиртові екстракти листя, квіток і коріння кульбаби лікарської та настоянка листя горіха грецького вірогідно поступаються диклофенаку натрію. Це можна пояснити специфікою вибраної моделі, яка, як відомо, характеризує циклооксиге-

назний шлях метаболізму арахідонової кислоти, а також особливостями механізму дії екстрактів, що досліджувалися.

Згідно табл. 2, водно-спиртовий екстракт листя кульбаби лікарської виявляє тенденцію до прояву більшої протизапальної активності, ніж водно-спиртові екстракти квіток та коріння кульбаби лікарської. При цьому він виявляє протизапальні властивості на рівні настоянки горіха грецького.

Таким чином, проведені дослідження дозволили встановити, що водно-спиртові екстракти надземної та підземної частин кульбаби лікарської за величиною LD_{50} (при внутрішньошлунковому введенні) є практично нетоксичними речовинами, та виявити наявність протизапальних властивостей у водно-спиртових екстрактах надземної та підземної частини кульбаби лікарської. При цьому за протизапальною активністю екстракт листя кульбаби лікарської не поступається настойці горіха грецького. За рівнем протизапальної активності всі досліджувані рослинні екстракти поступаються нестероїдному протизапальному лікарському засобу - диклофенаку натрію.

Отримані дані демонструють перспективність подальшого дослідження спектру біологічної активності водно-спиртових екстрактів надземної частини кульбаби лікарської.

Таблиця 1

Гостра токсичність (LD_{50}) водно-спиртових екстрактів надземної частини (листя, квітки) і підземної частини кульбаби лікарської

Доза, мг/кг	Кількість тварин у групі	Кількість тварин, що загинули	ЛД ₅₀ , мг/кг
Водно-спиртовий екстракт листя кульбаби лікарської			
2500	2	0	>5000
3170	2	0	
3980	2	0	
5010	2	0	
Водно-спиртовий екстракт квіток кульбаби лікарської			
2500	2	0	>5000
3170	2	0	
3980	2	0	
5010	2	0	
Водно-спиртовий екстракт коріння кульбаби лікарської			
2500	2	0	>5000
3170	2	0	
3980	2	0	
5010	2	0	

Таблиця 2

Антиексудативна активність водно-спиртових екстрактів кульбаби лікарської

Група тварин	Досліджуван-ний екстракт	Маса набряклої лапки, мг	Маса здорової лапки, мг	Різниця маси, мг	Середнє значення різниці мас набряклої та інтактної лапок, мг ($M \pm m$)	Інгібіція набряку, %
1	Контроль	220	139	81	67,1±5,6	—
		207	140	67		
		203	117	86		
		183	122	61		
		190	136	54		
		185	131	54		
2	40% водний розчин етилового спирту (етанолу)	200	142	58	58.1±2,6	13,3 %**
		180	132	48		
		181	116	65		
		179	122	57		
		169	104	65		
		187	131	56		
3	Диклофенак натрію	158	136	22	26,6±2,2	60,2 %**
		156	130	26		
		153	134	19		
		165	132	33		
		161	129	32		
		158	130	28		
4	Настоянка листя горіха грецького	192	156	36	38,0±1,9	43,4 %*, ***
		182	141	41		
		180	143	37		
		170	133	37		
		182	144	38		
		152	123	39		
5	Водно-спиртовий екстракт листя кульбаби лікарської	206	152	54	40,0±2,9	40,38 %*, ***
		171	133	38		
		151	110	41		
		176	139	37		
		164	128	36		
		160	126	34		
6	Водно-спиртовий екстракт квіток кульбаби лікарської	186	122	64	46,8± 4,1	30,3 %*, ***
		174	139	35		
		177	132	45		
		201	149	52		
		204	160	44		
		182	141	41		
7	Водно-спиртовий екстракт коріння кульбаби лікарської	176	123	53	52,5± 1,2	21,7 %*, ***
		184	128	56		
		172	119	53		
		194	147	47		
		188	136	52		
		177	123	54		

Примітки: * - $P < 0,001$ у порівнянні з контролем;** - $P < 0,01$ у порівнянні з контролем; ***- $P < 0,01$ у порівнянні з диклофенаком натрію.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. — Киев: "Наукова думка". — 1976. — 260 с.
2. Волошин О.І., Пішак О.В., Волошина Л.О. Ліки рослинного походження: сучасні тенденції у вітчизняній та світовій клінічній медицині і фармації (дискусія) // Фітотерапія. Часопис. — 2003. — № 3. — С.3 — 7.
3. Гарник Т.П., Мітченко Ф.А., Шураєва Т.К. Деякі аспекти застосування лікарських рослин та рослинної сировини в медицині // Фітотерапія. Часопис. — 2002. — № 1 — 2. — С.70 — 72.
4. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. — Новосибирск: Наука, 1990. — 333 с.
5. Гудзенко А.В. Вивчення антирадикальних властивостей водних та спиртових екстрактів кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) // Ліки. — 2006. — №3-4. — С.66 — 71.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За редакцією Стефанова О.В. / К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
7. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / Методичні рекомендації. — Київ, 2000. — 28 с.
8. Етика лікаря та права людини: положення при використанні тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. — 2003. — Т. 22, №2.. — С. 108-109.
9. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захарина Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. — Киев: "Вища школа", 1983. — 381 с.
10. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Експериментальне визначення протизапальної активності композиції глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію на моделі карагенинового набряку // Клінічна фармація. — 2002. — №2. — С. 48-50.
11. Кисельова Н.П. Розробка складу та технології настойки листя горіху грецького. — Автореф.дис... канд. фарм. наук. — Харків, 1998. — 19 с.
12. Ковальчук Т.В., Гудзенко А.В., Цуркан А.О. Визначення флавоноїдів у квітках кульбаби лікарської // Фармацевтичний журнал. — 2003. — № 6. — С.82 — 85.
13. Лапач С.Н., Чубенко А.В. Применение современных статистических методов при проведении доклинических исследований // Фармакол.вісник. — 1998. — Травень-червень. — С.20 — 24.
14. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистика в науке и бизнесе. — К.: Морион, 2002. — 640 с.
15. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. — Киев: "Морион", 2001. — 408с.
16. Мамчур Ф.І. Довідник з фітотерапії. — Київ: "Здоров'я", 1986. — 280 с.
17. Прозоровский В.К., Пчелинцев С.П. Табличный метод определения минимальной токсической дозы.// Фармакология и токсикология. — 1983. — С. 91 — 94.
18. Растительные лекарственные средства / Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. — К.: Здоров'я. — 1985, 280 с.
19. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство Asteraceae (Compositae).- СПб.: "Наука", 1993. — 351с.
20. Тринус Ф.П., Клебанов Б.М., Ганджа И.М., Сейфулла Р.Д. Фармакологическая регуляция воспаления. — Киев: "Здоров'я", 1987. — 144 с.
21. Тринус Ф.П., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М. Нестероидные противовоспалительные средства.- К.: Здоров'я. — 1975. — 240 с.
22. Чекман И.С. Лекарственные растения: фармакологический аспект // Фармакология и токсикология. — 1991. — Вып.26. — С.3 — 6.
23. Чекман И.С. Клінічна фітотерапія. — Київ: Вид.АСК. — 2003. — 550с.

А.В.Гудзенко, О.Е.Ядловский

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СПИРТОВЫХ ЭКСТРАКТОВ ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*TARAXACUM OFFICINALE*)

В эксперименте изучена острая токсичность и антиэкссудативная активность водно-спиртовых экстрактов листьев, цветов, и корней одуванчика лекарственного. Установлено, что на модели "карагениновый отек", экстракт из листьев одуванчика лекарственного ингибируют отек на 40,38% и не уступает по антиэкссудативной активности настоюке листьев ореха грецкого.

A.V.Gudzenko, O.E.Iadlovskyi

AN ACUTE TOXICITY AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF ALCOHOL EXTRACTS OF *TARAXACUM OFFICINALE*

In the experiment it was investigate an acute toxicity and antyeksydativ activity of aqueous-alcoholic extracts of leaves, flowers, and roots of *Taraxacum officinale*. It was fix, that on the model "karagenin edema", extract of leaves of *Taraxacum officinale* inhibit edema on 40,38 % and do not concede on antyeksydativ activity to tincture of leaves *Juglans regia*.