

Т. В. Корнопольцева, Е. А. Ботоева, Т. А. Асеева, Ж. Б. Жашинамжилов

НОВОЕ СРЕДСТВО РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ “ПАНКАФИТ” И ОЦЕНКА ЕГО ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

ФББУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Россия, 434743, Улан-Удэ;
e-mail: tv-kornopol@mail.ru

Разработана методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в пересчете на рутин-стандарт в полиэкстракте сухом “Панкафит”, полученном из надземной части панцерины шерстистой (*Panzerina lanata* (L.) Sojak, семейства Lamiaceae) и листьев какалии копьевидной (*Cacalia hastata* L., сем. Asteraceae). Внутривенное введение крысам линии Wistar экстракта сухого “Панкафит” в дозе 100 мг/кг при остром асептическом воспалении сопровождалось антиальтеративным и антиэкссудативным действием, а также ускорением регенерации поврежденной ткани. Полученные данные аргументируют целесообразность применения экстракта сухого “Панкафит” в качестве противовоспалительного средства в комплексе с другими лечебно-профилактическими мероприятиями.

Ключевые слова: экстракт сухой; флавоноиды; альтерация; экссудация; пролиферация.

Во всем мире уделяется большое внимание созданию, изучению и внедрению в клиническую практику препаратов для лечения воспалительных заболеваний репродуктивной системы. Несмотря на то, что имеется широкий арсенал противовоспалительных препаратов, проблема изыскания новых высокоэффективных средств, обладающих данным видом действия, остается весьма актуальной.

Сведения об использовании растений в народной и традиционной медицине являются надежным ориентиром для выбора направления поиска новых видов лекарственного сырья. В качестве объекта исследования выбрана композиция из 2 лекарственных растений под условным названием “Панкафит”: надземной части панцерины шерстистой (*Panzerina lanata* (L.) Sojak, сем. Lamiaceae) и листьев какалии копьевидной (*Cacalia hastata* L., сем. Asteraceae) в соотношении 2:1. Препараты из этих растений обладают выраженным противовоспалительным и кровоостанавливающим действием [1, 2], что указывает на целесообразность применения данной композиции в качестве средства для лечения гинекологических заболеваний. Кроме того, указанные виды произрастают на территории Бурятии и являются доступными для заготовок лекарственного сырья.

Целью настоящей работы явилась разработка методики стандартизации противовоспалительного экстракта под условным названием “Панкафит” и определение его противовоспалительной эффективности.

Экспериментальная часть

Растительный материал собран в Прибайкальском районе Республики Бурятия в 2012 г. Сырье панцерины представляет собой цветущую надземную часть панцерины шерстистой — многолетнего травянистого растения семейства губоцветных; запах сильный, своеобразный, вкус горький. Сырьем какалии являются зеленые листья какалии копьевидной — многолетнего растения семейства сложноцветных; запах слабый, вкус терпкий.

Наличие основных биологически активных веществ определяли по общепринятым методикам [3, 4]. Наличие фенолкарбоновых кислот — методом двумерной бумаж-

ной хроматографии (БХ) в системах растворителей: 15 % раствор уксусной кислоты (I); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5) (II); проявитель — пары аммиака. Качественный состав алкалоидов исследовали хроматографированием в тонком слое окиси алюминия в системе растворителей этанол — ацетон (8:2), проявитель — реактив Драгендорфа. Флавоноидный состав экстракта сухого изучен методом БХ в системах растворителей (I) и (II), проявитель — 5 % раствор алюминия хлористого.

Определение потери в массе при высушивании проводили на дериватографе Netzsch STA 449 C (Германия). Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Agilent-8453E (США) в кварцевых кюветках с толщиной поглощающего слоя 10 мм.

Фармакологические исследования проведены в летне-осенний период на 150 белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 160 – 170 г, которых содержали в условиях естественного светового режима и на стандартной диете при свободном доступе к воде и корму.

При определении противовоспалительной активности данного средства использовали классические модели асептического воспаления, позволяющие оценить влияние “Панкафита” на основные стадии этого процесса, а также выявить некоторые аспекты механизма его противовоспалительного действия.

О характере влияния испытуемого средства на альтерацию тканей и интенсивность процессов регенерации судили по динамике заживления кожно-мышечного дефекта у крыс, индуцированного подкожным введением 0,5 мл 9 % уксусной кислоты с одновременным введением раствора декстрана в дозе 300 мг/кг массы [5]. Первое введение водного раствора экстракта сухого “Панкафит” в дозе 100 мг/кг осуществляли внутривенно за 1 ч до введения флогогенных агентов, а затем ежедневно 1 раз в сутки на протяжении всего эксперимента (29 дней). Животные контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. В качестве препарата сравнения вводили деалкоголизированный раствор спиртового экстракта календулы в изоэффективной дозе 100 мг/кг массы животного. Пло-

щадь некротизированной ткани оценивали планиметрическим методом на 9 и 29 сут эксперимента.

Оценку влияния “Панкафита” на экссудативную фазу воспалительной реакции проводили на моделях острого асептического воспаления у животных с использованием флоготенных агентов с различными механизмами противовоспалительного действия (формалин, декстран (CH_3COOH), гистамин). Асептическое воспаление у крыс в соответствующих группах вызывали однократным субплантарным введением в заднюю конечность 0,1 мл 3 % раствора формалина [6], 6 % водного раствора декстрана в объеме 0,1 мл [7] и 0,1 % раствора гистамина гидрохлорида в объеме 0,1 мл [8]. ЭС “Панкафит” и экстракт календулы в соответствующих группах животных вводили внутривентрикулярно за 1 ч до инъекции, а затем через 5 и 18 ч. Оценку антиэкссудативного действия вычисляли, рассчитывая процент угнетения отека по отношению к контролю.

Влияние “Панкафита” на образование фиброзно-грануляционной ткани осуществляли по методу [9]. Испытуемое средство и препарат сравнения вводили крысам внутривентрикулярно с 1-го дня опыта в указанном объеме и дозах 1 раз в сутки в течение 7 дней.

Результаты и их обсуждение

Методом кратной мацерации с учетом оптимальных параметров экстракции получен экстракт сухой (ЭС), представляющий порошок коричневого цвета с приятным запахом и горьковатым вяжущим вкусом. Гигроскопичен, комкуется, хорошо растворим в воде, в 50 % спирте этиловом. Потеря в массе при высушивании не превышает 5 %. Установлено, что основное удаление влаги начинается при температуре 50 °С, а при 150 °С происходит разложение экстракта. Оптимизацию процесса экстракции проводили с учетом выхода суммы экстрактивных веществ и суммы флавоноидов [3, 10].

С помощью хроматографических методов в полученном экстракте сухом установлено наличие фенолкарбоновых кислот, из которых идентифицированы кофейная и хлорогеновая. Качественный состав алкалоидов представлен стахидрином и холином. Флавоноидный состав данного экстракта содержит рутин, кверцетин, изорамнетин, кемпферол. Идентификацию проводили со стандартными образцами (ГСО).

При исследовании спектров поглощения экстракта “Панкафит” установлено, что максимумы спектров поглощения спиртовых растворов экстракта близки к тако-

вым ГСО рутина. При добавлении к раствору экстракта раствора алюминия хлорида, I максимум спектра смещался к 413 нм и был близок к максимуму спектра поглощения ГСО рутина, снятого в аналогичных условиях. Данный факт позволил разработать методику стандартизации указанного экстракта в пересчете на ГСО рутин-стандарт.

Оценку правильности разработанной методики проводили с использованием общепринятого метода добавок [10]. Относительная ошибка методики при этом не превышала 5 %. Средняя ошибка 3 определений для 3 образцов находится в пределах 0,98 – 1,97 %, что свидетельствует об удовлетворительной воспроизводимости методики, относительная ошибка единичного определения не превышает 5 %.

Суммарное содержание флавоноидов, определенное с использованием разработанной методики в 9 сериях экстракта сухого, составило 5,8 – 7,3 %. Следовательно, суммарное содержание флавоноидов в пересчете на рутин-стандарт в полиэкстракте “Панкафит” должно нормироваться — не менее 4,5 %.

При оценке влияния экстракта сухого на альтерацию и регенерацию при остром асептическом воспалении у белых крыс установлено, что “Панкафит” в указанном объеме оказывает противовоспалительное действие, о чем свидетельствуют уменьшение степени альтерации тканей и повышение интенсивности регенераторных процессов в очаге воспаления. Введение белым крысам экстракта сухого “Панкафит” оказывает антиальтеративное действие, снижая степень деструкции ткани при воздействии флоготенного агента. Так, на 9 и 29 сут эксперимента площадь повреждения тканей снижается на 32 и 46 %, соответственно, по сравнению с контролем (табл. 1). “Панкафит” оказывает существенное антиэкссудативное действие, о чем свидетельствуют уменьшение выраженности отека конечности животных при асептическом воспалении, индуцированном формалином — на 47 %, декстраном и гистамином — на 22 % по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы (табл. 2). При этом антиэкссудативная активность “Панкафита” превосходит таковую препарата сравнения — экстракта календулы. При определении влияния исследуемого средства на пролиферативную стадию воспаления установлено, что средняя масса соединительнотканной капсулы в очаге воспаления возрастает на 7,8 % по сравнению с показателями животных контрольной группы (табл. 3), т.е. обладает умеренным пролиферативным действием.

Таким образом, разработана методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в пересчете на рутин-стандарт в экстракте сухом “Панкафит”, которая может использоваться при стандартизации. Внутривентрикулярное введение экстракта сухого “Панкафит” в дозе 100 мг/кг массы крысам при остром асептическом воспалении оказывает антиальтеративное и антиэкссудативное действие, а также способствует ускорению регенерации, в результате чего наблюдается заживление ткани на более ранних сроках патологического процесса. Указанные эффекты подтверждают наличие у испытуемого средства выраженной противовоспалительной активности.

Таблица 1

Влияние “Панкафита” на альтерацию и регенерацию при остром асептическом воспалении у белых крыс

Группа животных	Площадь альтерации, см ²	
	9 сут	29 сут
Контрольная (CH_3COOH + дистиллированная вода) ($n = 10$)	5,00 ± 0,20	2,40 ± 0,10
CH_3COOH + спиртовой экстракт календулы ($n = 10$)	4,00 ± 0,14* [#]	1,85 ± 0,10* [#]
CH_3COOH + “Панкафит” ($n = 10$)	3,40 ± 0,20*	1,30 ± 0,22*

Здесь и в табл. 2 – 3: различия статистически достоверны при $p \leq 0,05$: * — от “контроля”; [#] — от группы “спиртовой экстракт календулы”.

Влияние “Панкафита” на экссудативную фазу воспаления у белых крыс

Группа животных	Разность между объемами воспаленной и невоспаленной лапок, мл	Угнетение отека, %
Формалиновый отек		
Контрольная (формалин + дистиллированная вода) ($n = 10$)	$1,17 \pm 0,05$	–
Формалин + спиртовой экстракт календулы ($n = 10$)	$0,98 \pm 0,05^*$	16,2
Формалин + “Панкафит” ($n = 10$)	$0,82 \pm 0,72^{*#}$	38,5
Декстрановый отек		
Контрольная (декстран + дистиллированная вода) ($n = 10$)	$1,15 \pm 0,1$	–
Декстран + спиртовой экстракт календулы ($n = 10$)	$1,09 \pm 0,1^*$	5,2
Декстран + “Панкафит” ($n = 10$)	$0,90 \pm 0,10^{*#}$	21,7
Гистаминовый отек		
Контрольная (гистамин + дистиллированная вода) ($n = 10$)	$0,45 \pm 0,01$	–
Гистамин + спиртовой экстракт календулы ($n = 10$)	$0,40 \pm 0,01^*$	11
Гистамин + “Панкафит” ($n = 10$)	$0,35 \pm 0,01^{*#}$	22

Таблица 3

Влияние “Панкафита” на образование грануляционно-фиброзной ткани в очаге воспаления у белых крыс

Группа животных	Средняя масса сухих гранул, мг	Разность по сравнению с контролем, мг	Степень стимуляции образования гранулемы, %
Контрольная группа (дистиллированная вода) ($n = 10$)	$25,0 \pm 0,77$	–	0
Спиртовой экстракт календулы ($n = 10$)	$20,0 \pm 1,0^{*#}$	4,1	– 6,4
“Панкафит” ($n = 10$)	$30,4 \pm 1,10^*$	5,4	+ 7,8

Очевидно, что реализация указанного действия экстракта сухого “Панкафит” обеспечивается высоким содержанием в нем биологически активных веществ, таких как флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, органические кислоты полисахариды и другие водорастворимые вещества. Полученные нами данные предполагают целесообразность применения экстракта сухого “Панкафит” в качестве противовоспалительного средства в комплексе с другими лечебно-профилактическими мероприятиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Л. Буданцев, *Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность*, т. 4, Санкт-Петербург; Москва (2011), сс. 233 – 234.
2. А. Л. Буданцев, *Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав и использование*, т. 5, Наука, Санкт-Петербург (1993), с. 79.
3. Н. И. Гринкевич, *Химический анализ лекарственных растений*, Москва (1983), сс. 20 – 176.
4. В. В. Беликов, Т. В. Точкова, *Тез. докл. II Всесоюзного симпозиума по фенол. соедин.*, Алма-Ата (1973), сс. 168 – 172.
5. И. П. Убева, *Фармакол. и токсикол.*, **50**(1), 66 – 71 (1987).
6. Ю. С. Стрельников, *Фармакол. и токсикол.*, № 6, 526 – 531 (1960).
7. А. Ф. Лещинский, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, № 4, 436 – 438 (1976).
8. П. Н. Александров, *Фармакол. и токсикол.*, № 1, 84 – 86 (1986).
9. Ф. П. Тринус, Н. А. Мохорт, Б. М. Клебанов, *Нестероидные противовоспалительные средства*, Киев (1975), сс. 40 – 48.
10. Ю. А. Золотов, *Основы аналитической химии*, Т. 1, Москва (2002), сс. 7 – 34.

Поступила 01.04.14

NEW HERBAL PREPARATION PANCAFIT AND ITS ANTIINFLAMMATORY EFFICACY

T. V. Kornopol'tseva*, E. A. Botoeva, T. A. Aseeva, and Zh. B. Zhashinamzhilov

Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, Buryat Republic, 434743Russia;

* e-mail: tv-kornopol@mail.ru

A method of quantitative determination of the sum of flavonoids (as per rutin standard) in the new dry herbal polyextract pankafit was elaborated for its standardization. This herbal preparation was obtained from the above-ground parts of *Panzerina lanata* L. Sojak (Laminaceae) and the leaves of *Cacalia hastate* L. (Asteraceae) and its characteristics were determined. Intragastric administration of pankafit in a dose of 100 mg/kg to Wistar rats with acute aseptic inflammation was accompanied by antialterative and antiexsudant action, as well as by accelerated regeneration of damaged tissue. The obtained data showed expediency of using pankafit dry extract as anti-inflammatory agent in combination with other prophylactic and therapeutic treatments.

Keywords: Flavonoids; *Panzerina lanata* L.; *Cacalia hastate* L.; dry extract; anti-exsudant; antiproliferant