

Н. М. Петухова, А. В. Бурякина, Е. Л. Авенирова,
М. А. Буракова, Е. В. Дрожжина

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МАСЛЯНОГО ЭКСТРАКТА ЯСНОТКИ БЕЛОЙ

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия

Из надземной части яснотки белой *Lamium album* L. был получен масляный экстракт, содержащий сумму производных хлорофилла $0,46 \pm 0,02$ мг/мл. В качестве экстрагента использовали двухфазную систему, состоящую из спирта этилового и масла подсолнечного. Изучение биологической активности масляного экстракта яснотки белой проводили на моделях гемолитической и железодефицитной анемии. Антианемическая активность *Lamium album* L. была определена для каждой из изучаемых моделей.

Яснотка белая, *Lamium album* L., однолетнее травянистое растение, широко применяемое в народной медицине. В качестве сырья для получения извлечений из яснотки белой чаще всего используется трава или цветки. К основным видам терапевтического действия извлечений из надземной части яснотки белой относят кровоостанавливающее, отхаркивающее, вяжущее, противовоспалительное, успокаивающее и диуретическое [1, 2]. Яснотка белая проявляет свойства иммунопротектора, а также обладает антигипоксической активностью [3, 4]. В составе растительных сборов в числе основных лекарственных трав яснотка применяется при анемиях разного генеза [5].

Широкий спектр фармакологической активности яснотки белой обусловлен содержащимся в ней комплексом биологически активных веществ: флавоноидов, иридоидов, фенольных кислот, аминокислот, каротиноидов, производных хлорофилла [4], полисахаридов [6]. Также в этом виде сырья обнаружен бета-ситостерин [7].

Целью наших исследований являлось изучение биологической активности, а именно антианемического действия, масляного экстракта из надземной части яснотки белой, содержащего комплекс липофильных компонентов (хлорофиллов, каротиноидов, стеролов).

Экспериментальная часть

Экстрагирование надземной части яснотки белой осуществляли методом мацерации на водяной бане при температуре 70 ± 5 °С в течение 1,5 ч. В качестве экстрагента использовали двухфазную систему растворителей: спирт этиловый 70 % — масло подсолнечное в соотношении 1:1. Полученное извлечение фильтровали, масляную и спиртовую фазы разделяли на делительной воронке. Количественное содержание суммы производных хлорофилла в масляном экстракте яснотки (МЭЯ) в пересчете на феофитин А определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 668 ± 2 нм [8]. Содержание производных хлорофилла составило $0,46 \pm 0,02$ мг/мл.

Биологическую активность МЭЯ изучали на моделях гемолитической анемии (ГА) и железодефицитного состояния (ЖДС) на белых беспородных крысах

самцах массой 150 – 170 г, полученных из питомника РАН “Рапполово” (Ленинградская область).

ГА индуцировали внутримышечным введением фенолгидразина хлорида белым беспородным крысам самцам в дозе 3 мг/100 г двукратно с интервалом в 5 дней. Анемию регистрировали через 7 дней после последнего введения гемолитического яда [9, 10]. О развитии анемического процесса судили по количеству эритроцитов, гемоглобина, показателям гематокрита и индексам эритроцитов [11]. За исход анемии принимали значения гемоглобина ниже 120 г/л и количество эритроцитов ниже $5 \cdot 10^{12}$ [9]. Формировали 3 опытные группы животных: интактные; негативный контроль (животные, не получавшие лечения) и животные, которым вводили МЭЯ, после регистрации анемии. Об эффективности МЭЯ судили при сравнении показателей периферической крови опытных животных и животных контрольной группы. Определение показателей периферической крови проводили до введения фенолгидразина и после развития анемии в течение 12 недель с интервалом в 2 недели.

Для воспроизведения у крыс ЖДС, вызванного кровотечением, использовали следующую схему: в течение 6 дней животным внутрижелудочно вводили бутадиион в дозе 100 мг/кг; одновременно с введением бутадииона проводили ежедневные кровопускания [9, 12]. У подопытных животных определяли содержание железа сыворотки, ненасыщенную железосвязывающую способность (НЖСС), общую железосвязывающую способность (ОЖСС) и процент насыщения трансферрина [11, 13]. Формировали следующие группы животных: интактные; контрольные, не получавшие лечения; группа, получавшая лечение (МЭЯ). Определение количества сывороточного железа, ненасыщенной и общей железосвязывающей способности крови экспериментальных крыс проводили через 2, 6 и 9 недель после начала развития анемии.

Количество эритроцитов подсчитывали в камере Горяева, гематокрит определяли унифицированным методом; количество гемоглобина, железо сыворотки, НЖСС — спектрофотометрическим методом с помощью готовых наборов фирмы “Ольвекс диагностикум”. ОЖСС, процент насыщения трансферрина желе-

Динамика изменений показателей периферической крови группы негативного контроля ($n = 10$ животных в группе)

Срок наблюдения, недели	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $\times 10^{12}$	Гематокрит	Индекс эритроцитов			
				Цветовой показатель	МСН, пг	МСНС, %	MCV, мкм ³
До начала эксперимента	167,2 \pm 1,7	7,9 \pm 2,2	52,0 \pm 0,8	0,65 \pm 0,02	21,4	35,6	65,8
Исход анемии	92,2 \pm 1,4	4,3 \pm 0,1	27,5 \pm 1,8	0,54 \pm 0,05	29,3	32,3	85,3
2	95,8 \pm 4,3	3,9 \pm 1,2	33,9 \pm 0,4	0,62 \pm 0,09	31,2	29,8	102,2
4	98,2 \pm 1,1	3,5 \pm 0,5	42,2 \pm 1,3	0,84 \pm 0,11	28,1	23,3	120,6
6	98,8 \pm 6,2	3,4 \pm 0,6	33,9 \pm 0,4	0,87 \pm 0,12	29,1	29,2	99,7
8	105,6 \pm 7,1	3,9 \pm 0,9	43,8 \pm 4,1	0,81 \pm 0,09	27,1	24,2	112,3
12	116,1 \pm 1,4	4,7 \pm 0,9	45,1 \pm 3,1	0,78 \pm 0,08	24,7	25,7	96,9

зом и индексы эритроцитов рассчитывали по стандартным формулам [11, 13].

Исследуемый масляный экстракт при исследовании антианемической активности на обеих моделях вводили животным ежедневно перорально в дозе 1 мл/кг, что связано с ограничением объема вводимого препарата [9].

Результаты и их обсуждение

В ходе эксперимента по изучению антианемической активности на модели ГА было установлено, что колебания уровня гемоглобина, количества эритроцитов и индексов эритроцитов в интактной группе на всех сроках исследования не были статистически значимыми и не выходили за пределы физиологической нормы. Количество эритроцитов крыс изменялось в пределах $(5,3 - 8,3) \cdot 10^{12}$; гемоглобина — 131,4 – 162,8 г/л; гематокрита 50,0 – 54,8 %; цветовой показатель составил 0,66 – 0,88. Индексы эритроцитов колебались в пределах: среднее содержание гемоглобина в эритроците (МСН в пикограммах) — 21,9 – 28,6; средняя концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС, %) — 25,6 – 35,6; средний корпускулярный объем эритроцитов (MCV, мкм³) — 79,8 – 87,4.

В группе негативного контроля отмечалось снижение количества гемоглобина, эритроцитов, гематок-

ритной величины (табл. 1). Имело место увеличение цветовой показатель и средней концентрации гемоглобина в эритроцитах через 14 дней, что свидетельствовало о развитии гиперхромной анемии.

Как следует из анализа данных, приведенных в табл. 2, введение МЭЯ оказывало противоанемическое действие при развившейся гемолитической анемии, вызванной введением фенилгидразина: через 12 недель после начала введения МЭЯ уровень гемоглобина составил 132,8 г/л, количество эритроцитов — $5,8 \cdot 10^{12}$, гематокритная величина — 50,7, то есть показатели находились в пределах физиологической нормы для крыс. Отмечали снижение показателей цветности, индекса эритроцитов до уровня соответствующих данных у интактных животных.

Результаты исследований влияния МЭЯ на развитие железо-дефицита приведены в табл. 3. Содержание сывороточного железа в крови у интактных животных снизилось с 43,3 ммоль/л до начала эксперимента до 34,3 ммоль/л через 9 недель после начала эксперимента, что может быть связано с периодическим забором крови у животных. Тем не менее, все изменения сывороточного железа находились в пределах ошибки. Такие же изменения, характеризующие обмен железа, наблюдали по другим показателям — через 9 недель снижался процент насыщения трансферрина железом, имело место незначительное повышение ОЖСС.

Динамика изменений показателей периферической крови группы, получающей МЭЯ как лечение ($n = 10$ животных в группе)

Срок наблюдения, недели	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $\times 10^{12}$	Гематокрит	Индекс эритроцитов			
				Цветовой показатель	МСН, пг	МСНС, %	MCV, мкм ³
До начала эксперимента	167 \pm 1,7	7,9 \pm 2,2	52,0 \pm 0,8	0,65 \pm 0,02	21,4	35,6	65,8
Исход анемии	102,7 \pm 5,2	3,2 \pm 0,2	29,7 \pm 1,1	0,95 \pm 0,04	31,8	34,3	92,8
2	117,7 \pm 2,2	4,7 \pm 0,5*	44,5 \pm 0,2*	0,84 \pm 0,10	24,9	26,8	94,6
4	126,0 \pm 1,2*	5,0 \pm 0,8*	49,8 \pm 1,8*	0,76 \pm 0,03	25,2	25,3	99,3
6	128,2 \pm 2,4*	5,1 \pm 0,5*	43,0 \pm 0,7*	0,72 \pm 0,10	25,1	29,8	84,3
8	131,8 \pm 4,9*	5,8 \pm 0,4*	52,3 \pm 2,4*	0,72 \pm 0,01	22,6	25,0	90,2
12	132,8 \pm 2,6*	5,8 \pm 0,4*	50,7 \pm 2,8*	0,69 \pm 0,06	22,9	26,2	87,4

* Отличия от негативного контроля статистически значимы.

Динамика показателей содержания железа ($n = 10$ животных в группе)

Срок наблюдения, недели	Группа	Сывороточное железо, мкм/л	НЖСС, мкм/л	ОЖСС, мкм/л	Процент насыщения трансферрина
Исходные данные		43,3 ± 4,5	53,9 ± 1,9	97,2 ± 3,8	44,5 ± 4,3
2	Интактная	41,4 ± 3,8	55,6 ± 3,3	97,0 ± 3,5	42,7 ± 4,0
	Контроль	24,8 ± 3,5*	79,8 ± 3,7*	104,2 ± 5,8*	31,1 ± 2,2*
	МЭЯ	37,0 ± 5,8	67,2 ± 1,2*	104,6 ± 3,4*	55,1 ± 2,3*
6	Интактная	38,8 ± 3,0	46,8 ± 3,7	85,6 ± 3,5	40,6 ± 4,4
	Контроль	22,5 ± 3,2*	73,2 ± 6,3*	92,6 ± 3,3	26,3 ± 6,1*
	МЭЯ	29,4 ± 1,1*	60,5 ± 7,0*	89,9 ± 3,8	28,0 ± 2,2*
9	Интактная	34,3 ± 5,4	49,6 ± 5,5	83,9 ± 4,2	40,6 ± 5,0
	Контроль	23,3 ± 4,0*	84,2 ± 9,2*	103,8 ± 5,5*	23,4 ± 2,1*
	МЭЯ	30,7 ± 3,6	60,7 ± 8,6	91,4 ± 5,3	33,6 ± 2,8

* Отличия от интактной группы статистически значимы.

У животных из группы негативного контроля наибольшее снижение количества сывороточного железа наблюдали через 9 недель после начала развития анемии — на 50 % по сравнению с исходными данными. Одновременно с этим повышалась ОЖСС, что свидетельствует о развитии железодефицитного состояния. У животных, получавших МЭЯ, уровень сывороточного железа к окончанию эксперимента был сравним с показателями в интактной группе.

Таким образом, введение масляного экстракта яснотки белой оказывает антианемическое действие на моделях гемолитической анемии и анемии, вызванной сочетанным внутренним кровотечением и кровопусканием. Противоанемическое действие извлечений из яснотки белой может быть обусловлено антиоксидантными свойствами препаратов хлорофилла, так как в настоящее время доказано, что развитие анемического процесса сопровождается выраженной активацией перекисного окисления липидов [14]. Влияние введения масляного экстракта яснотки на ограничение развития железодефицитного состояния, по всей видимости, связано и с наличием у этого растения кровоостанавливающих свойств.

ЛИТЕРАТУРА

- И. Э. Акопов, *Кровоостанавливающие растения (кровоостанавливающие и другие лечебные их свойства)*, Медицина, Ташкент (1981).
- Д. Йорданов, П. Николов, А. Бойчинов, *Фитотерапия. Лечение лекарственными травами*, София (1968).
- Е. Е. Лесиовская, Л. В. Пастушенко, *Фармакотерапия с основами фитотерапии*, Учебное пособие, 2-е изд., ГЭОТАР-МЕД, Москва (2003).
- В. С. Березина, *Автореф. дис. канд. фарм. наук*, Санкт-Петербург (2003).
- С. Н. Турищев, *Фитотерапия. Учебное пособие для студентов высш. мед. учеб. заведений*, Академия, Москва (2003).
- В. С. Березина, М. Н. Повывдыш, Л. С. Теслов, А. Л. Буданцев, *Растит. ресурсы*, **39**(1), 69 – 76 (2003).
- Н. М. Петухова, В. С. Березина, А. Б. Вожева и др., *Тез. докл. IX Междунар. съезда “Фитофарм 2005” и конференции молодых ученых Европейского фитохимического общества “Растения и здоровье”*, (2005), сс. 735 – 739.
- В. А. Мельникова, В. А. Вайнштейн, А. Н. Шиков, И. Е. Каухова, *Хим.-фарм. журн.*, **33**(12), 27 – 30 (1999).
- В. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария и др., *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*, Вища школа, Киев (1983).
- Л. И. Идельсон, Н. А. Дидковский, Г. В. Еомильченко, *Гемолитические анемии*, Медицина, Москва (1975).
- В. В. Меньшикова (ред.), *Лабораторные методы исследования в клинике*, Медицина, Москва (1987).
- Е. С. Рысс, *Анемия и желудочно-кишечный тракт*, Медицина, Ленинград (1982).
- А. М. Богданов, А. А. Новик, *Вестник гематологии*, **1**(4), 63 – 70 (2005).
- Р. Беркоу, Э. Флетчер (ред.), *Руководство по медицине. Диагностика и терапия*, Т. 1, Мир, Москва (1997), сс. 771 – 804.

Поступила 13.11.06

BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE OIL EXTRACT OF *LAMIUM ALBUM*

N. M. Petukhova, A. V. Buryakina, E. L. Avenirova, M. A. Burakova, and E. V. Drozhzhina

St. Petersburg State Chemico-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, Russia

An oil extract of the above-ground part of *Lamium album* L. (LA) has been obtained by two-phase extraction with a mixture of ethanol and sunflower oil. The extract contains chlorophyll derivatives in a concentration of 0.46 ± 0.02 mg/ml. Study of the biological activity of the LA extract on the models of hemolytic and iron-deficiency anemia showed a pronounced antianemic effect on both models.