

УДК: 615.322:582.998.16.086.13

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ *CARDUUS NUTANS* L.

- ¹ Т. І. Баланчук, асист. каф. фармац.
- ² О. В. Мазулін, д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн., фармхімії і технол. ліків ФПО
- ¹ Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
- ² Запорізький державний медичний університет

Останнім часом у світі спостерігається тенденція постійного зростання потрапляння до організму людини гепатотоксичних хімічних речовин. При цьому також постійно підвищується рівень застосування населенням засобів побутової хімії, лікарських препаратів, алкогольних напоїв. Це спричиняє негативну дію на стан внутрішніх органів, зокрема печінки [11, 12].

Значну роль в її захисті, відновленні функцій, нормалізації кровотворення та затримці кровотеч відіграють лікарські рослини та засоби на їх основі. Вони успішно застосовуються у традиційній та народній медицині для лікування гепатитів та станів після їх перенесення, механічних та хімічних пошкоджень печінки, її цирозі, дистрофії й жирових інфільтрацій. Біологічно активні речовини рослинного походження здатні у відносно короткі терміни нормалізувати стан, структуру, функції та метаболічні процеси в клітинах цього органу, пригнічувати перекисне окиснення ліпідів, сприяти відновленню його життєвих функцій. Виражену гепатозахисну і протипухлинну дію у складі рослинної сировини виявляють сполуки з класів: флавоноїди, флавонолігнани, амінокислоти, жирні олії, вітаміни та ін. [4, 5, 6].

Дослідження рослинної сировини перспективних видів з вираженою гепатозахисною активністю, впровадження в медичну практику нових лікарських засобів на її основі має велике теоретичне та практичне значення.

Народна медицина України та багатьох країн світу достатньо широко використовує види роду *Carduus* L. (**будяк**), переважно в якості протизапальних, протипухлинних, гепатопротекторних та заспокійливих засобів. Рід *Carduus* L. є представником **порядку Asterales (айстроцвіті)**, **родини Asteraceae (айстрові)**. Він включає 120 основних видів, розповсюджених у країнах Європи, Азії, Північної Африки, у США та Канаді, Китаї, Аргентині, Австралії, Новій Зеландії. В Україні відомі до 30 його представників. Одним з найбільш поширених є **будяк пониклий** (*Carduus nutans* L.) [6, 8, 9, 12].

Вид зустрічається в різноманітних природних біоценозах, утворює зарості по луках, вологих балках, сухих пагорбах, пустирях, пасовищах, вздовж доріг, полів. Це невибаглива багаторічна рослина з прямостоячим стеблом, висотою від 90 до 120 см. Листя колюче, перисто надріза-

не. Цвіте в червні-серпні. Квіткові кошики дуже колючі, крупні, шароподібні, пониклі, яскраво-пурпурові, складаються з трубчастих квіток. Листя сірого кольору зубчасте, колюче. Його довжина суттєво знижується від основи до верхівки рослини. Плід – звичайна сім'янка, ребриста, жовто-бура довжиною 8-10 мм, по краю з зубчастим обідком, що закінчується чубуком [8, 13].

Під час цвітіння в суцвіттях і траві *Carduus nutans* L. ідентифіковані: флавоноїди, гідроксикоричні, аміно- та органічні кислоти, кумарини, неорганічні елементи, ефірна олія зі сесквітерпеновими лактонами в її складі. Переважаючими компонентами вважають флавоноїди, похідні апігеніну, лютеоліну та кемпферолу [10, 12].

У сучасній народній медицині настій з трави *Carduus nutans* L. (1:10) відомий як протизапальний, протипухлинний, гепатопротекторний засіб. Відвар коренів (1:10) виявляє протизапальну, протипухлинну, заспокійливу дію [6, 12]. При цьому не було отримано екстрактів з рослинної сировини, не встановлена їх токсичність та біологічна активність в експериментах на лабораторних тваринах.

Беручи до уваги виражену біологічну активність трави *Carduus nutans* L., практично необмежений сировинний запас, перспективним є одержання та впровадження в медичну практику лікарських засобів на її основі.

Метою роботи були: розробка технології отримання екстракту з трави *Carduus nutans* L., дослідження його токсичності та фармакологічної активності.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були трава будяку пониклого, заготовлена в різних регіонах України під час цвітіння (червень-липень 2013-2015 р.р.), відповідно до загальних вимог ДФУ (дод. 1.2) [3]. Сушіння проведено у сушильній шафі "Termolab СНОЛ 24/350" (Україна) (t = 40 °C) протягом 15 год.

Ліофілізований екстракт (ЛЕ) з водного витягу (1:5) трави *Carduus nutans* L. отримували методом сублімаційного сушіння на лабораторній установці Christ Alpha 1-2 LDplus (Німеччина), яка дозволяє у максимальній мірі зберегти якісний склад та кількісний вміст діючих сполук. Екстрагування рослинної сировини проводили тричі водою очищеною (+40 °C) протягом 40 хв. При зниженні

Вживання і маса тіла тварин при дихлоретановому пошкодженні печінки на 16-у добу експерименту, (М+м) (n=10)

Група тварин	Кількість тварин		Маса тіла тварин	
	на 1-у добу	на 16-у добу	на 1-у добу	на 16-у добу
Інтакт	10	10	170,1±6,0	180,1±4,1
Контроль (дихлоретан)	10	5	177,2±6,1	144,2±4,1*
ЛЕ	10	8*	166,1±4,1	164,0±5,0
Карсил	10	8*	175,0±3,1	174,1±6,1

* $p < 0,05$ – відносно контрольної групи

тиску в субліматорі на 4 Па спостерігали зниження температури витяжок до -50°C . Загальний термін процесу становив 6 год. з виходом ЛЕ з 1 л витягу до 68 г.

Дослідження токсичності ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. було проведено за методиками [5, 7]. Визначення гепатозахисної активності визначали на моделі токсичного гепатиту, викликаного дихлоретаном, у порівнянні з референт-препаратом «Карсил» АО «Софарма» на 50 нелінійних білих щурах-самцях масою 160-170 г, отриманих з розплідника Інституту фармакології й токсикології АМН України. Щоденно протягом 20 днів усіх тварин зважували та оглядали. При цьому оцінювали їх загальний стан та поведінку. Для моделювання токсичного гепатиту дихлоретан вводили внутрішньошлунково крізь металевий атравматичний зонд у дозі 500 мг/кг (50 % розчин на соняшниковій олії) 1 раз на день впродовж 4 діб. На 5-ту добу введення завершували й протягом 10 діб тваринам дослідних груп внутрішньошлунково призначали 1 раз на добу: ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. (100 мг/кг) та референт-препарат «Карсил» АО «Софарма» (100 мг/кг).

Біохімічні та морфологічні дослідження проводили на 16-ту добу експерименту. Про ефективність лікування робили висновок за клінічною картиною, динамікою маси тіла, вмістом білірубину, загального білка сироватки крові, активністю трансаміназ (АлТ, АсТ), фосфатаз (лужна (ЛФ) та кисла (КФ)), лактатдегідрогенази (ЛДГ), навантажувальними пробами (тимолова, бромсульфалеїнова, гексеналовий тест). За вмістом у печінці SH – груп цитохрому P450, накопиченню продуктів окислювальної модифікації білка – альдегідфенілгідрозонів і карбофеніл-

гідрозонів – оцінювали стан антиоксидантної, детоксикаційної системи печінки та процесів оксидативного стресу. Процес адаптивного синтезу протеїну оцінювали за вмістом загального білка, РНК, вільних амінокислот та сечовини у печінці.

Отримані результати були оброблені методом математичної статистики з застосуванням пакету ліцензійної програми «Statistica 6.0 for Windows 6.1» (StatSoft Inc., № АХХ R712D833214SAN5). Достовірність відмінностей величин концентрацій, оцінювали за t-критерієм Ст'юдента ($p > 95\%$), між експериментальними групами за критерієм Уїтні-Манна [1, 2].

Результати дослідження та їх обговорення

Встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні щурам ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. можна віднести до VI класу токсичності ($\text{LD}_{50} > 15000$ мг/кг). Не виявляє місцевоподрознювальної та алергізуючої дії [7]. Результати проведених досліджень наведено в табл. 1, 2.

До 16-ї доби експерименту в контрольній групі без лікування померло 50 % тварин. Гепатотоксична дія дихлоретану виявлялась у пригніченні процесу синтезу протеїну й активації катаболізму білків. У печінці тварин, які отримували дихлоретан, знижувався рівень РНК, загального білка та підвищувався вміст сечовини і вільних амінокислот. Ураження печінки та розвиток токсичного гепатиту підтверджувались зниженням її функціональної активності у відношенні мікросомальних ферментів. Підвищувалась тривалість гексеналового сну.

Біохімічні показники крові тварин при дихлоретановому пошкодженні печінки на 16-у добу експерименту, (n=10)

Показники	Інтакт	Контроль (дихлоретан)	ЛЕ	Карсил
Загальний білок, г/л	64,00± 2,10	40,21 ± 4,01	55,21± 2,70*	53,21±2,01*
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,01 ± 0,31	6,91 ± 0,40	3,11 ± 0,15*	3,10 ± 0,32*
АЛТ, Од/л	0,21 ± 0,01	1,68 ± 0,12	0,67± 0,05*	0,58± 0,03*
АСТ, Од/л	0,51 ± 0,04	0,99 ± 0,07	0,71± 0,05*	0,72± 0,05*
ЩФ, Од/л	0,65± 0,07	2,18 ± 0,21	0,97 ± 0,08*	0,96 ± 0,08*
КФ, мкмоль/л	0,74 ± 0,08	1,98 ± 0,17	0,70 ± 0,05*	0,72 ± 0,09*
ЛДГ, моль/год/л	4,97± 0,32	12,7 ± 1,12	8,1 ± 0,52*	7,6 ± 0,65*
Тимолова проба, од.	1,46± 0,04	6,27 ± 0,66	3,78 ± 0,21*	2,76± 0,17*
Бромсульфалеїн, на 10 хв., мг%	11,21± 1,10	38,61 ± 2,11	21,10± 1,50*	23,20± 1,60*

* $p < 0,05$ – відносно контрольної групи

При лікуванні препаратом «Карсил» і ЛЕ, померло лише по 20 %. Клінічна картина у групах тварин без лікування характеризувалася гіподинамією, зниженням апетиту (зменшенням використання корму та води), загальмованістю, погіршенням стану шерсті.

Спостерігалася деяка жовтушність слизових оболонок та склер, збільшення розмірів печінки. При інтоксикації тварин дихлоретаном достовірно знижувалася маса їхнього тіла. Лікування тварин ЛЕ дозволяло збільшити масу тіла. За цим показником він був ідентичним за дією карсилу. Біохімічні показники крові тварин свідчать про явні порушення функції печінки. Так, на 16-у добу експерименту в контрольних групах тварин, які отримали дихлоретан, спостерігали виражене підвищення активності ферментів АЛТ, АСТ, ЛФ, КФ та ЛДГ. Це свідчило про порушення функціонального стану печінки та розвиток токсичного гепатиту.

Рівень білірубину в контрольній групі з дихлоретаном достовірно підвищувався у порівнянні з аналогічним значенням інтактної групи. Про токсичне пошкодження печінки свідчило також підвищення активності лужної та кислої фосфатази, підвищення тимолової та бромсульфалеїнової проби. При дихлоретановій інтоксикації у печінці зменшувався рівень детоксикаційного цитохрому Р-450, що супроводжувалось зниженням рівня антиоксидантного захисту. На цьому тлі спостерігалась активація оксидативного стресу, про що свідчило підвищення рівня маркерів окиснювальної модифікації білка (АФГ та КФГ).

За основними показниками біологічна активність ЛЕ була ідентичною карсилу АО «Софарма» у рівних дозах (100 мг/кг). Так, рівень загального білка у крові після лікування був близьким в обох випадках, але достовірно більш високим у порівнянні з контрольною групою. ЛЕ підвищував рівень цитоплазматичного білка в печінці та гальмував зростання рівня вільних амінокислот, знижував утворення сечової кислоти, що свідчило про активацію адаптивного синтезу протеїну. Введення ЛЕ і карсилу не виявляло достовірного впливу на вміст РНК у печінці. В результаті курсового введення ЛЕ тваринам з дихлоретаном

тановим гепатитом активність АЛТ і АСТ у крові знижувалась. Також достовірно знижувалась активність ЛДГ, лужної і кислої фосфатази, вмісту білірубину. Цей факт вказує на активну мембранопротективну дію. Карсил за ступенем впливу на ці показники був порівняним з досліджуваним ЛЕ. На цій моделі токсичного гепатиту ЛЕ також виявляв виражені антиоксидантні властивості. Так, введення експериментальним тваринам ЛЕ призводило до зниження окислювальної модифікації білка в печінці (зниження маркерів – АФГ і КФГ). Паралельно в печінці тварин реєстрували підвищення рівня відновлених тіолів, що свідчило про підвищення активності антиоксидантної системи печінки під впливом ЛЕ. Карсил виявляв менш виражену антиоксидантну дію. Введення ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. та карсилу призводило до підвищення рівня цитохрому Р 450, що свідчило про підвищення детоксикаційної функції печінки.

Проведені дослідження свідчать про доцільність одержання з трави *Carduus nutans* L. комплексних фітопрепаратів з вираженою гепатопротекторною, антиоксидантною та детоксикаційною активністю.

Висновки

1. Запропоновано отримання ліофілізованого екстракту з трави *Carduus nutans* L., заготовленої під час цвітіння.

2. При внутрішньошлунковому введенні щурам ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. можна віднести до VI класу токсичності (ЛД₅₀ > 15000 мг/кг). Не виявляє місцевоподразнювальної та алергізуючої дії.

3. На моделі токсичного гепатиту щурів, викликаного дихлоретаном, ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. (100 мг/кг) виявляє виражену гепатопротекторну активність, порівняну з референт-препаратом «Карсил» АО «Софарма» (100 мг/кг).

4. ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. (100 мг/кг) виявляє виражену антиоксидантну дію з одночасним поновленням детоксикаційної функції печінки.

Література

1. Державна Фармакопея України. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 556 с.
2. Державна Фармакопея України. Доповнення 1. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
3. Державна Фармакопея України. Доповнення 2. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 617 с.
4. Доркина Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е. Г. Доркина // Эксперимент. и клин. фармакол. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 41-44.
5. Иванова В. В. Изучение гепатопротективного действия растительного экстракта коры березы при экспериментальном гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом / В. В. Иванова, Ю. В. Лигостаева, О. Н. Потеряева // Фундамент. исслед. – 2013. – № 2-3. – С. 277-279.
6. Кюсов П. А. Лекарственные растения: самый полный справочник / П. А. Кюсов. М.: Эксмо-Пресс, 2011. – 939 с.
7. Кукес В. Г. Методические указания по доклиническому изучению новых препаратов, разрабатываемых из природного сырья / В. Г. Кукес, В. М. Булоев, В. К. Колхир – М.: Минздрав РФ, – 2005. – 348 с.
8. Определитель высших растений Украины [Текст] / Д. Н. Добрачаева [и др.]; под ред. Ю. Н. Прокудина. – К.: Наук. Думка, 1987. – 548 с.
9. Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России / Н. Н. Цвелев. – СПб.: Изд-во СПУВА, 2000. – 781 с.
10. Dimitrova-Dyalgerova I. Phenolic profile and in vitro antioxidant activity of endemic Bulgarian *Carduus* species / I. Dimitrova-Dyalgerova, I. Zheley, D. Mihaylova // Pharmacogn. Magaz. – 2015 – Vol. 11, N 4. – P. 575-579.
11. Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury / G. Aktay, D. Deliorman, E. Ergun [et al.] // J. Ethnopharmacol.

– 2000. – Vol. 73, N 1-2. – P. 121-129.

12. Jordan-Thaden I. E. *Chemistry of Cirsium and Carduus: A role in ecological risk assessment for biological control of weeds* / I. E. Jordan-Thaden, S. M. Louda // *Biochem. system. and Ecol.* – Vol. 31, № 12. – P. 1353-1396.

13. Rauschert E. S. J. *Coexistence patterns of two invasive species, Carduus nutans and C. acanthoides, at three spatial scales* / E. S. J. Rauschert, K. Shea, O. N. Bjornstad // *Biol. Invas.* – 2012. – Vol. 14, N 1. – P. 151-164.

Надійшла до редакції 22.06.2017

УДК: 615.322:582.998.16.086.13

Т. І. Баланчук, О. В. Мазулін

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ *CARDUUS NUTANS* L.

Ключові слова: ліофілізований екстракт, трава, будяк пониклий, гепатопротекторна, антиоксидантна, детоксикаційна дія.

Методом ліофілізаційного сушіння на лабораторній установці Christ Alpha 1-2 LDplus (Німеччина) отримано екстракт (ЛЕ) з водного витягу (1:5) трави будяку пониклого (*Carduus nutans* L.). Екстрагування рослинної сировини проведено тричі водою очищеною (+40 °C) протягом 40 хв. При зниженні тиску в субліматорі на 4 Па спостерігалось зниження температури витяжок до -50 °C. При цьому максимальною мірою збережено якісний склад та кількісний вміст діючих сполук. При внутрішньошлунковому введенні лабораторним щурам ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. $LD_{50} > 15000$ мг/кг не виявлено місцевопоздрознової та алергізуючої дії. На моделі токсичного гепатиту щурів, викликаного дихлоретаном, ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. (100 мг/кг) виявляє виражену гепатопротекторну активність співвідносно з референт-препаратом "Карсил" АО «Софарма» (100 мг/кг). ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. (100 мг/кг) виявляє виражену антиоксидантну дію з одночасним поновленням детоксикаційної функції печінки. ЛЕ з трави *Carduus nutans* L. є перспективним для впровадження в якості комплексного фітопрепарату з вираженою гепатопротекторною, антиоксидантною та детоксикаційною активністю.

Т. И. Баланчук, А. В. Мазулин

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ *CARDUUS NUTANS* L.

Ключевые слова: лиофилизированный экстракт, трава, чертополох поникший, гепатопротекторное, антиоксидантное, детоксицирующее действие.

Методом лиофилизационной сушки на лабораторной установке Christ Alpha 1-2 LDplus (Германия) получен экстракт (ЛЭ) из водного извлечения (1:5) травы чертополоха поникшего (*Carduus nutans* L.). Экстрагирование растительного сырья проведено трижды водой очищенной (+40 °C) в течение 40 мин. При снижении давления в субли-

маторе на 4 Па наблюдалось понижение температуры извлечений до -50 °C. При этом в максимальной степени сохранен качественный состав и количественное содержание действующих веществ. При внутривенном введении лабораторным крысам ЛЭ из травы *Carduus nutans* L., $LD_{50} > 15000$ мг/кг не установлено местнораздражающего и алергизирующего действия. На модели токсического гепатита крыс, вызванного дихлорэтаном, ЛЭ из травы *Carduus nutans* L. (100 мг/кг) проявляет выраженную гепатопротекторную активность, сопоставимую с референт-препаратом «Карсил» АО «Софарма» (100 мг/кг). ЛЭ из травы *Carduus nutans* L. (100 мг/кг) проявляет выраженное антиоксидантное действие с одновременным возобновлением детоксикационной функции печени. ЛЭ из травы *Carduus nutans* L. является перспективным для внедрения в качестве комплексного фитопрепарата с выраженной гепатопротекторной, антиоксидантной и детоксикационной активностью.

Т. I. Balanchuk, A. V. Mazulin

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF *CARDUUS NUTANS* L. LYOPHILIZED HERB EXTRACT

Keywords: lyophilized extract, herb, *Carduus nutans* L., hepatoprotective, antioxidant, detoxifying action.

Lyo-drying method in a laboratory Christ Alpha 1-2 LDplus (Germany) was obtained lyophilized extract (LE) from an aqueous infusion (1:5) with herb of *Carduus nutans* L. Extraction of plant raw material water conducted thrice treated (+ 40 °C) for 40 min. By reducing the pressure in the sublimator 4 Pa observed decrease extract temperature to -50 °C. Thus the maximum extent were saved qualitative and quantitative compositions of the content of active substances. When administered in gastric laboratory rats LE with herb of *Carduus nutans* L., $LD_{50} > 15000$ mg/kg. do not set local irritant and allergic effect. In the model of toxic hepatitis in rats induced dichloroethane, LE with herb of *Carduus nutans* L. (100 mg/kg) exhibits a pronounced hepatoprotective activity comparable to that of the referent drug "Karsil" AO "Sofarma" (100 mg/kg). LE with herb of *Carduus nutans* L. (100 mg/kg) exhibits a pronounced antioxidant effect with simultaneous resumption of the detoxifying liver function. LE with herb of *Carduus nutans* L. is promising for implementation as a therapeutic agent with pronounced hepatoprotective, antioxidant and detoxifying activity. The LE with herb of *Carduus nutans* L. is perspective for obtaining complex phytopreparats having hepatoprotective, antioxidant and detoxifying action.

