

УДК: 615.451.16:615.014.24:615.326  
 © Галкін О.Ю., Котов А.Г., 2011

## ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ КОРЕНІВ ЛОПУХУ ВЕЛИКОГО (*Arctium lappa* L.)

Галкін О.Ю., Котов А.Г. \*

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»; ТОВ «Універсальне агентство «ПРО-ФАРМА», м. Київ; \*ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» МОЗ України, м. Харків

**Вступ.** Лопух великий (*Arctium lappa* L.) – дворічна трав'яниста рослина з родини складноцвітих (Compositae). Корені лопуха великого містять ефірну барданову олію, фенілкарбонові кислоти (хлорогенову і кофейну), гіркі та дубильні речовини, глікозид арктиїн, вуглевод інулін, ситостерин і стигмастерин, пальмітинову і стеаринову кислоти, велику кількість аскорбінової кислоти [1, 2, 8, 9, 11].

У традиційній медицині та косметології препарати лопуха великого застосовуються у вигляді реп'яхової олії як засіб для профілактики та лікування випадіння волосся (алопеції). Відомо, що корінь лопуха великого характеризується сечогінними, потогінними і депуративними властивостями, сприяє нормалізації обміну речовин при подагрі, цукровому діабеті, жовчнокам'яній та нирковокам'яній хворобах, а також при захворюваннях шкіри (себореї, екземах, лишаях, трофічних виразках, гноячкових захворюваннях). Для лікування поліартриту, захворювань шкіри, лишайів, виразок, екземи до спеціальних ванн додають відвар суміші коренів лопуха великого, листя кропиви [8, 9, 11, 15].

**Мета роботи** – проведення фармакогностичного вивчення та стандартизації коренів лопуха великого (*Arctium lappa* L.), а також формування рекомендацій щодо проекту АНД на сировину. Стаття є фрагментом НДР «Фармакотерапевтичний та фітохімічний дизайн, стандартизація та розробка технології галенових препаратів різної спрямованості» (№ держреєстрації 0110U007069).

**Об'єкти та методи дослідження.** Об'єктом нашого дослідження були корені лопуха великого, заготовлені у Київській, Полтавській і Вінницькій областях у вересні-жовтні 2008 р. Мікропрепарати для попереднього вивчення анатомічної будови сировини готували зі свіжозібраної та фіксованої сировини [12, 14, 16]. Препарати порошку кореня висушеного вивчали за допомогою світлового мікроскопа «Біолам Ломо». Критерії стандартизації для лікарської рослинної сировини (ЛРС) визначені у Державній фармакопеї України (ДФУ) у загальній монографії «Лікарська рослинна сировина» [4-7]. ЛРС контролюють за такими показниками: опис, ідентифікація (макроскопія, мікроскопія, випробування за методом ТШХ), сторонні домішки, втрата в масі при висушуванні, мікробіологічна чистота, загальна зола, зола не розчинна в кислоті хлористоводневій, важки металі, кількісне визначення [7, 17].

**Результати досліджень та їх обговорення.**

Морфологічний опис видів лопуху та їх географічне поширення в межах України наведені у визначниках [1, 2]. Довідники, крім того, подають також правила заготівлі й зберігання ЛРС видів лопуху [7, 9, 10], її хімічний склад, фармакологічні властивості, використання та лікарські форми і застосування [4]. Зовнішні макроскопічні ознаки ЛРС описані у [11]. Що стосується мікроскопічних ознак, то згадані вище джерела характеризують вторинну анатомічну будову кореня лопуху на його поперечному зрізі [11]. На підставі аналізу літературних даних [1, 2, 7-9, 11, 13], а також аналізу зібраної сировини, нами розроблено характеристику зовнішніх та мікроскопічних ознак ЛРС.

**Зовнішні ознаки.** Куски кореня від 3,5 до 10 см завдовжки, від 1 до 3,5 см у діаметрі; неочищені зовні глибоко подовжньо зморшкуваті, вкриті корком темно-коричневого кольору. Злам нерівний, пористо-зернистий, від білуватого до блідо-сірого кольору. На зламі по лінії камбію видимий розрив тканин; зовні від нього розташовані тканини кори білувато-бежевого кольору, а до центру – спочатку дещо світліша деревина із радіальними смугами рожевуватого кольору, а глибше білувата, пориста паренхіма серцевини. Після розтирання сировина має слабкий своєрідний запах; при розжовуванні розм'ягчується, спочатку солодкуватого, а потім гіркого та слизуватого або не виразного смаку.

**Мікроскопічні ознаки.** Сировину здрібноють на порошок. Порошок неочищених коренів сірувато-коричневого або коричневатого-сірого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин *хлоральгідрату Р*. У порошок виявляються: фрагменти корка із 2-3 шарів клітин темно-коричневого кольору; фрагменти паренхіми кори, центрального циліндра із округлих клітин з тонкими оболонками; фрагменти паренхіми серцевинних променів із дещо подовжених клітин із тонкими оболонками; поодинокі секреторні клітини зі вмістом буруватого кольору; групи луб'яних волокон і волокон центрального циліндра з потовщеними оболонками та широкими порожнинами; групи драбинчастих судин і прилеглою до них паренхімою; групи спіральних судин і прилеглі до них волокна; фрагменти членків спіральних, драбинчастих або драбинчасто-пористих судин, клітини паренхіми з інуліном.

**Ідентифікація.** Аналіз літературних даних [1, 2, 6, 8, 9, 11, 17] показав, що одними з найбільш важливих маркерних сполук лопуху є се-

квітерпени (наприклад, арктиїн), поліфеноли та похідні коричної кислоти. Слід зазначити що, відсутність у Україні фармакопейних зразків арктиїну перешкоджає розробці достовірного методу ідентифікації цієї сполуки у сировини. Тому поліфеноли і похідні коричної кислоти, у даному випадку, є найбільш вдалим для стандартизації даної ЛРС.

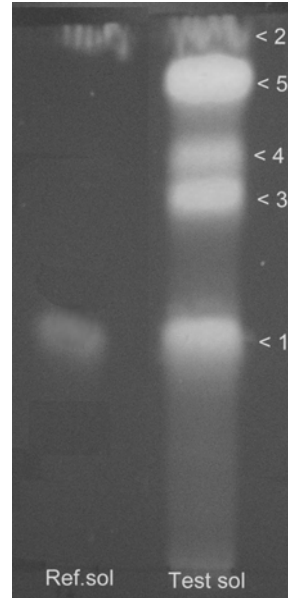
При розробці методики тонкошарової хроматографії (ТШХ) була використана методика ідентифікації кислот, описана для багатьох рослин, а також для листя ясеню «Ash leaf» (*Fraxini folium*) у Європейській Фармакопеї (ЄФ) (5 вид.) [17] і модифікована для проведення аналізу в коренях лопуху. Так, в результаті проведених досліджень були вибрані наступні умови: випробовуваний зразок готували шляхом екстракції кислот метанолом; хроматографування проводили на пластинах «Сорбфіл ПТСХ-АФ-А-УХ» або «Silica gel 60» F<sub>254</sub> (Merck, США) розміром 6 × 10 см, в якості елюючої суміші використали суміш розчинників *кислота мурашина безводна P – вода P – етилацетат P* (10:10:80), паралельно з випробовуваним розчином наносили розчини хлорогенової та кофейної кислот. Для виявлення в УФ-світлі використали розчин *аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти*, при цьому на хроматограмах виявляються характерні блакитні і жовтаво-блакитні флуоресцюючі зони (рис. 1). На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися блакитна флуоресцююча зона (1), що відповідає зоні кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння; блакитна флуоресцююча зона (2), що відповідає зоні кислоти кофейної на хроматограмі розчину порівняння. Між цими зонами мають виявлятися не менше трьох жовтаво-блакитних флуоресцюючих зон (3-5).

Якісну краплинну реакцію на поліфенольні сполуки проводили з фосфорномолібденово-вольфрамовим реактивом з подальшою обробкою плями калію гідроксиду розчином спиртовим. Має з'явитися синє забарвлення.

Відповідно до вимог якості лікарської рослинної сировини до проекту АНД вважаємо за необхідне ввести розділи «**Втрата в масі при висушуванні**» (ДФУ, 1 вид., 2.2.32) та «**Загальна зола**» (ДФУ, 1 вид., 2.4.1 Б). Втрата в масі при висушуванні має бути не більше 12 %, загальна зола – не більше 10 %, зола не розчинна у 10 % хлористоводневої кислоті – не більше 2 %. Регламентация дана відповідно експериментальним даним наведеним з аналізу трьох серій ЛРС.

**Вміст сторонніх домішок** (інших частин рослини, органічних та мінеральних) визначають ваговим методом: аналітичну пробу сировини (близько 100 г) поміщають на гладку чисту поверхню і лопаточкою або пінцетом відділяють домішки. Кожен вид домішок зважують окремо і розраховують вміст. Відповідно до вимог якості ЛРС сумарний вміст сторонніх домішок має бути не більше 5,0 %. Крім того, вважаємо за необхідне у даний розділ включити відмітну ознаку ко-

реня лопуха від коренів беладони, який виявляється в процесі мікроскопічних досліджень, а саме: при перегляді під мікроскопом у порошок не має бути виявлено крохмаль, піщаних кліток, кристалів і друз оксалату кальцію (*Radix Belladonnae*).



**Рис. 1.** Хроматограми випробовуваного розчину і розчину порівняння хлорогенової і кофейної кислот (пояснення у тексті)

**Кількісне визначення (гідроксикоричні кислоти).** Визначення проводять абсорбційно спектрофотометричним методом (ДФУ, 1 вид., 2.2.25). Вміст кислот у сировині пропонуємо проводити за методикою, що заснована на утворенні комплексної сполуки з натрію нітритом і натрію молібдатом у лужному середовищі. Як показали попередні фітохімічні дослідження, до складу БАР сировини входять фенолкарбоніві кислоти (зокрема хлорогенова, кофейна), тому в основу методики кількісного визначення нами покадено методику визначення гідроксикоричних кислот Європейської Фармакопеї (5 вид.) «ASH LEAF, *Fraxini folium*». Вимірювання оптичної густини випробовуваного розчину проводиться за довжини хвилі 525 нм. Суму кислот перераховують на хлорогенову кислоту, з використанням питомого показника, який в умовах методики дорівнює 188.

При розробці методики в першу чергу, було виміряний УФ-спектр випробовуваного розчину лопуха і визначений максимум поглинання одержаного розчину. В результаті було встановлено, що максимум поглинання знаходиться за довжини хвилі 525 нм ± 2 нм, що дозволило використовувати методику ЄФ і визначати вміст суми гідроксикоричних кислот в сировині в перерахунку на хлорогенову кислоту. Вміст суми гідроксикоричних кислот в сировині, в перерахунку на хлорогенову кислоту має бути не менше 2,0 %. Регламентация дана відповідно експериментальних даних, які одержані при аналізі

трьох серій сировини ( $X_{(c.1)} = 2,45\%$ ,  $X_{(c.2)} = 2,27\%$ ,  $X_{(c.3)} = 2,30\%$ ).

**Мікробіологічна чистота.** Підготовку зразків та визначення показників мікробіологічної чистоти проводили відповідно до вимог [4-7]. За результатами випробувань була встановлена наступна регламентація: в сировині допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше  $10^4$  бактерій і не більше  $10^2$  грибів в 1 г; допускається наявність не більше  $10^2$  ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г; не допускається наявність бактерій роду *Salmonella* в 10 г; не допускається наявність *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

**Висновки.** Проведено морфолого-анато-

мічне вивчення ЛРС кореню лопуху великого. Для контролю якості ЛРС вирішено проводити ідентифікацію поліфенолів та похідних коричної кислоти. Для проведення кількісного аналізу запропоновано визначати вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту. Проведені дослідження ЛРС дозволили встановити регламентацію інших показників якості, а саме: втрати в масі при висушуванні, загальної золи, вмісту сторонніх домішок та мікробіологічної чистоти. Отримані данні запропоновано для внесення у АНД на сировину. Подальші дослідження можуть бути спрямовані на визначення валідаційних характеристик методики кількісного визначення суми гідроксикоричних кислот у ЛРС.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Визначник рослин України. – К.: Урожай, 1965. – С. 696.
2. Визначник рослин УРСР. – Х.: Комуніст, 1950. – С. 560-561.
3. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-ше вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
4. Державна Фармакопея України. Допов. 1. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-ше вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
5. Державна Фармакопея України. Допов. 2. / Державне п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-ше вид. – Х.: РІРЕГ, 2008. – 620 с.
6. Державна Фармакопея України. Допов. 3. / Державне п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-ше вид. – Х.: РІРЕГ, 2009. – 280 с.
7. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник / За ред. А.М. Гродзинського. – К.: Українська енциклопедія, 1992. – С. 250-252.
8. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.А. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
9. Ивашин Д.С., Катина З.Ф., Рыбачук И.З. и др. Лекарственные растения Украины. – К.: Уро-
10. Ивашин Д.С., Катина З.Ф., Рыбачук И.З. и др. Справочник по заготовкам лекарственных растений. – К.: Урожай, 1983. – С. 153-155.
11. Городнянская Л.М., Сербин А.Г., Ткаченко Н.М. и др. Дикорастущие и культивируемые лекарственные растения, их диагностика и применение. Справочник. – Х.: ХФИ, 1991. – С. 186-191.
12. Барикина Р.П. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с.
13. Определитель высших растений Украины. – К.: Наук. думка, 1987. – С. 347.
14. Основы микротехнических исследований в ботанике: справочное руководство / Р.П. Барикина, Т.Д. Веселова, А. Г. Девятов [и др.] – М.: МГУ, 2000. – 127 с.
15. Практическая фитотерапия / Т.А. Виноградова, Б.Н. Гажев, В.М. Виноградов, В.К. Мартынов. – С.-Пб.: Нева, 1998. – 638 с.
16. Dashek W.V. Methods in Plat Electron Microscopy and Cytochemistry. – N.Y.: Humana Press, 2000. – 301 p.
17. European Pharmacopoeia, 5th Ed. – Strasburg, Council of Europe. – 2416 p.

**Галкін А. Ю., Котов А. Г.** Фармакогностическое изучение и стандартизация корня лопуха большого (*arctium lappa* L.) // Украинський медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 55-57.

Проведено морфолого-анатомічне вивчення коренів лопуху великого. Якісний аналіз сировини проводили по методу ТСХ (похідні коричної кислоти) та якісної капельної реакції (поліфеноли). Кількісний аналіз проводили по вмісту суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту. Встановлено регламентацію інших показників якості: втрати в масі при висушуванні, загальної золи, вмісту сторонніх домішок та мікробіологічної чистоти.

**Ключевые слова:** корень лопуха большого, фармакогностическое исследование, стандартизация

**Галкін О. Ю., Котов А. Г.** Фармакогностичне вивчення та стандартизація коренів лопуху великого (*arctium lappa* L.) // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 55-57.

Проведено морфолого-анатомічне вивчення ЛРС кореню лопуху великого. Для контролю якості ЛРС вирішено проводити ідентифікацію поліфенолів та похідних коричної кислоти. Для проведення кількісного аналізу запропоновано визначати вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту. Проведені дослідження ЛРС дозволили встановити регламентацію інших показників якості, а саме: втрати в масі при висушуванні, загальної золи, вмісту сторонніх домішок та мікробіологічної чистоти.

**Ключові слова:** корені лопуха великого, фармакогностичне дослідження, стандартизація

**Galkin A.Yu., Kotov A.G.** Pharmacognostic study of root of burdock (*arctium lappa* L.) And its standardization // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 55-57.

Morphological-anatomical study of the roots of burdock has been hold. Qualitative analysis of raw materials has been carried out by TLC (derivatives of cinnamic acid) and high-quality drop reaction (polyphenols). Quantify the amount has spent on the content of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid. Regulation of other quality indicators has been established: mass loss on drying, total ash, content of impurities and microbiological purity.

**Keywords:** roots of burdock, pharmacognostic study, standardization

Надійшла 25.10.2010 р.

Рецензент: проф. Л.В.Савченкова