**Аннотация**

**Мику Мохамед**

Тема: Химико - фармакологическое исследование лопуха войлочного.

Руководитель: доцент кафедры фармакологии к. ф. н. Дудко В. В.

Цель работы: Проведение химико - фармакологического исследования лопуха войлочного.

Задачи:

1. Определить товароведческие показатели листьев лопуха войлочного.

2. Получить жидкие экстракты из листьев лопуха войлочного на 25, 40, 70% этаноле и провести их стандартизацию.

3. Провести исследование противовоспалительной активности.

4. Провести выделение сесквитерпеновых лактонов.

Научная новизна:

1. Проведено сравнительное исследование противовоспалительной активности спиртовых экстрактов и водного извлечения.

2. Проведено выделение сесквитерпеновых лактонов.

Практическая значимость:

1. Получены спиртовые экстракты.

2. Спиртовый экстракт листьев на 70% этаноле проявил в клинических условиях противолямблиозную активность.

3. Все экстракты проявляют противовоспалительную активность, но сухой экстракт корней на 70% этаноле оказался более эффективным при хроническом воспалении, а сухой экстракт листьев на 25, 40% этаноле - при остром асептическом воспалении.

Выводы:

1. Определены товароведческие показатели листьев лопуха войлочного.

2. Получены жидкие экстракты на 25, 40, 70% этаноле и проведена их стандартизация.

3. Проведено исследование противовоспалительной активности экстрактов из корней и листьев и водного извлечения из листьев.

4. Проведено выделение сесквитерпеновых лактонов.

# МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ

**СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ И ТЕХНОЛОГИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ**

**Мику Мохамед**

**Химико – фармакологическое исследование лопуха войлочного**

**Дипломная работа**

|  |  |
| --- | --- |
| Допустить к защите:  заведующий кафедрой фармацевтической химии, доктор фармацевтических наук, профессор  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Краснов Е. А. | Научные руководители:  доцент кафедры фармацевтической химии, кандидат фармацевтических наук  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Дудко В. В. |

**Дипломник**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

(Подпись)

**ТОМСК**

**Содержание**

Часть 1. Литературный обзор\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1.1. Систематическое положение и ботаническое описание растений рода лопух, распространение\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1.2. Химический состав листьев лопуха\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1.3. Применение травы лопуха в народной медицине, результаты клинических испытаний\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1.4. Характеристика лямблиоза\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Часть 2. Экспериментальная часть\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.1. Характеристика товароведческих показателей листьев лопуха войлочного\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.2. Разработка рациональной лекарственной формы из листьев лопуха войлочного\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.2.1. Получение жидких экстрактов из листьев лопуха войлочного (1 : 1) на 25, 40, 70 % этаноле\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.2.2. Стандартизация жидких экстрактов из листьев лопуха войлочного на 25, 40, 70 % этаноле\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.3. Исследование противовоспалительных свойств сухих экстрактов листьев и корней, полученных на 25 %, 40 %, 70 % этаноле, сухого водного раствора, извлеченного из листьев лопуха войлочного\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.3.1. Характеристика воспалительного процесса\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.3.2. Материалы и методы исследования\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2.3.3. Результаты исследования\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Часть 3. Выделение сесквитерпеновых лактонов\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3.1. Общая характеристика\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3.2. Распространение в растительном мире\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3.3. Локализация в растениях\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3.4. Классификация\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3.5. Физико - химические свойства\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3.6. Методы выделения и разделения сесквитерпеновых лактонов\_\_\_\_\_\_\_\_

3.7. Выделение сесквитерпеновых лактонов из листьев лопуха войлочного\_

3.8. Хроматографическое исследование суммы лактонов из листьев лопуха войлочного\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3.9. ИК - спектроскопия суммы лактонов фракций 3 - 6 из листьев лопуха войлочного\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Выводы\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Приложение. Таблицы по противовоспалительной активности\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Список литературы\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Введение**

В последние годы интерес к лечению лекарственными растениями - фитотерапии - значительно возрос.

В начале нашего века лекарственные растения составляли до 80 % всех используемых лекарственных средств, но затем синтетические, антибиотические, гормональные и др. препараты значительно их потеснили. Однако, несмотря на поразительные успехи в создании синтетических препаратов, лекарства из растений продолжают занимать важное место в современной научной медицине.

Преимущество фитопрепаратов состоит в том, что они содержат комплекс действующих веществ, хорошо переносимых больными. Эти препараты богаты компонентами, которые способствуют всасыванию в пищеварительном тракте БАВ, обеспечивают жизнедеятельность клеточной протоплазмы, связь клеток с медиаторами нервной системы, усиливают ферментативную активность, улучшают проницаемость и эластичность тканей, способствуют выведению токсических веществ из организма.

К числу лекарственных растений, недостаточно изученных и популярных в народной медицине, относится лопух, широко распространенный во флоре Западной Сибири как сорное растение с приличной биомассой.

Задачей работы является проведение следующих исследований:

1) Определить товароведческие показатели листьев лопуха войлочного.

2) Получить жидкие экстракты из листьев лопуха войлочного на 25, 40, 70% этаноле и провести их стандартизацию.

3) Провести исследование противовоспалительных свойств.

4) Провести выделение сесквитерпеновых лактонов.

Новизна работы. 1) Проведено исследование противовоспалительной активности спиртовых экстрактов и водного извлечения. 2) Проведено выделение сесквитерпеновых лактонов.

Практическая значимость. 1) Получены спиртовые экстракты.

2) Спиртовый экстракт листьев на 70 % этаноле проявил в клинических условиях противолямблиозную активность. 3) Все экстракты проявляют противовоспалительную активность, но сухой экстракт корней на 70 % этаноле оказался более эффективным при хроническом воспалении, а сухой экстракт листьев на 25, 40 % этаноле при остром асептическом воспалении.

**Часть 1. Литературный обзор**

* 1. **Систематическое положение и ботаническое описание растений рода лопух, распространение**

Семейство Сложноцветных ASTERACEAE, насчитывающее около 1000 родов и более 20000 видов (Melchior, 1964, Тахтяджан, 1966), широко представлены на всех континентах и во всех климатических зонах земного шара. Во всех флористических регионах СНГ сложноцветные составляют значительную часть флоры. Обширность и неоднородность семейство ASTERACEAE затрудняет целенаправленный поиск того или другого класса природных соединений среди составляющих это семейство таксономических групп и не позволяют дать однозначной оценки перспективности в том или ином направление не только всего семейства, отдельных его триб или подтриб, но даже родов и их секций (Рыбалко К. С. и др., 1975).

Род ARCTIUM, семейство сложноцветных (Крылов П. Н., 1949) - средиземноморский по своему происхождению. На территории СНГ произрастает 8 из 11 видов этого рода. За лектотип рода принят вид А. lappa (Штэпа И. С., 1973).

По систематическому положению, он занимает промежуточное положение между родами Атрактилодес (ATRACTYLODES DS) и Анура (ANURA JUS TS CHER) (Юзепчук С. В., Сергиевская Е. В., 1962).

В свою очередь, родовое латинское название ARCTIUM, произошло от древнегреческого "arctos", обозначающего север или медведь, lappa - переводится как "северный или медвежий репейник". Русское название "лопух" произошло от древнерусского слова "лоп" - лист. Виды этого рода - широколиственные мезоморфные травы, преимущественно сорные, рудеральные, распространенные весьма широко, главным образом, в более северных, умеренно - влажных лесных областях, некоторые обитают во влажных и тенистых лесах и никогда не встречаются в засушливых условиях (Пайзиева С. А., 1962).

На территории Западной Сибири произрастает два вида лопуха: Arctium tomentosum Mill. и Arctium lappa L (Крылов П. Н., 1949).

**Arctium tomentosum Mill. (лопух войлочный)**

Растение 60 - 150 см высотой, корень мясистый, толстый, веретенообразный, коричневый; стебель прямостоящий, мощный, продольно бороздчатый, зеленый или красноватый, ветви многочисленные, прямостоящие оттопыренные, реже (в затененных местах) несколько дугообразно отогнутые, покрытые, как и стебель, сосочковидными волосками с примесью железок и паутинисто - опушенные; листья черешчатые, яйцевидные, с сердцевидным основанием до широкосердцевидных, цельнокрайние или раставленно зубчатые, на верхушке тупые, с насаженным остроконечном, сверху зеленые, голые или слегка опушенные прижатыми волосками, снизу густо, серовато- или беловато -паутинисто - войлочные, усаженные сидячими золотистыми железками, верхние листья на коротких черешках, яйцевидные или яйцевидно - продолговатые, черешки прикорневых листьев выполнен сердцевиной, войлочные, нередко красновато - коричневые. Общее соцветие щитковидное, корзинки располагаются приблизительно на одном уровне многочисленные, шаровидные, слабо стянуты на верхушке, считая без остроконечий - 11 - 18 мм шириной, с остроконечиями - 18 - 30 мм, 13 - 20 cм высотой, по созревании легко распадающиеся, сильно паутинисто опушенные или очень редко совсем лишены опушения; средние листочки обертки снаружи покрыты мелкими, короткими, прилегающими волосками иногда с примесью железок, по краю реснитчато - зубчатые, самые нижние листочки обертки короткие, с резко вниз направленными, недлинными остроконечиями, заканчивающимися крючком; нижние листочки обертки ланцетовидные, килеватые, у основания расширенные, от 1.25 до 1.5 мм шириной, переходящие в линейно-ланцетное, горизонтально отстояще остроконечие, оканчивающееся крючком, самые внутренние листочки обертки пурпуровые, расширенные у основания до 2.75 мм ширине линейно - ланцетные, туповатые или выгрызенные, с маленьким насаженным остроконечием, но не крючковидным; нередко все листочки обертки пурпуровые, венчик значительно длиннее внутренних листочке обертки, красновато - пурпуровый, покрытый рассеянными желтоватым железками, колокольчатый, к верху расширенный, трубка 4.5 - 6 мм длиной при основании расширенная, отгиб 4 - 5.5 мм длиной, из которых на долю лопастей приходится 2 - 2.5 мм, верхние придатки пыльников более менее внезапно оттянуты на верхушке в остроконечие 0.2 мм длиной, нижние придатки 0.6 мм длиной, простые или 2 - раздельные; семянки 5 - 6 м длиной, обратноконические, с тупо срезанным верхним концом и узкой площадкой прикрепления хохолка, гранистые, поперечно морщинистые серовато - коричневые, бурые или с темными зигзагообразными пятнами на более светлом фоне; хохолок 2.5 - 3 мм длиной.

Распространение: Европейская часть - Прибалтика, Лад. - Ильм., Дв. - Печ., Волж. - Кам., Верх. - Волж., Верхн. - Днепр., Сред. - Днепр., Кар. - Лапл., Волж. - Дон., Заволж., Ниж. - Дон., Верх. - Днестр., Причерн., Бесс., Крым; Кавказ; Зап. Сибирь - Томск, в дол. Р. Обь от Каргаска до г. Новосибирска с. Бердского, в сист. рек Кондомы, Мрассу, Томи, Верх. Таб., Ирт., Обск., Алт.; Вост. Сибирь; Дальн. Восток; Ср. Азия.

**1.2. Химический состав растений рода лопух.**

Что касаетсяхимического состава лопуха, то он изучен недостаточно. Имеется информация по отдельным группам биологически активных веществ, обнаружены: жирные масла, горькие вещества, аскорбиновая кислота, слизи, минеральные соли (Минаева В.Г., 1991, Лагерь А.А., 1992), а также эфирное масло (Растительные...,1993).

Семена лопуха войлочного содержат: жирные масла - 22.1 %; кислоты: миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая - 67.8 % ; триацисзицеролы коронаровой, верноловой, цис - 9, 10 - эпоксиоктадекановой и транс - 9, 10 - эпоксиоктадекановой кислот; высшие алифатические тритерпеновые спирты, стероиды, ацилглицеролы (Растительные..., 1993).

Помимо лопуха войлочного, есть другие виды похожие на него по химическому составу: это лопух малый и лопух большой.

В листьях лопуха большого так же как и у войлочного обнаружены жирные масла, горькие вещества, аскорбиновая кислота, слизи, минеральные соли.

Известно, что количественное содержание жирных масел в лопухе большом составляет 0.4 - 0.8 % (Минаева В.Г., 1991; Лагерь А.А., 1992); а также содержатся горькие вещества, вероятно сесквитерпеновые лактоны и эфирные масла. В лопухе большом идентифицирована пальмитиновая кислота, входящая в состав эфирного масла (Растительные..., 1993). Содержатся еще углеводы: моно и дисахариды до 22 %, дубильные вещества 3,4 - 8 %, фенолкарбоновые кислоты и их производные: кофейная, хлорогеновая, изохлорогеновая, флаваноиды до 5.7 - 18 % (Римкенс С.П. Биологические особенности...,1986).

В плодах лопуха большого содержатся органические кислоты: яблочная, лимонная, алкалоиды, сапонины, кумарины, фенолкарбоновые кислоты и их производные: кофейная, хлорогеновая, изохлорогеновая; лигнаны: арктиин, арктигенин, металрезинол, лигнаны AL - D и AL - F.

Семена лопуха большого содержат очень мало лигнанов: ( - ) - арктигенин, лоппаол А, лоппаол B, (Растительные...,1993), лигнановый гликозид - арктиин (Блинова К.Ф., Яковлева Г.П., 1990).

В семенах лопуха малого содержатся жирные масла - 21.4 %, представленные кислотами (в %): пальмитиновая - 9 %, пальмитооленовая (гексадецен 9 - овая) - 0, 9, стеариновая - 1 %, олеиновая - 20.3 %, линолевая - 67 %, леноленовая - 1.7 %, миристиновая. Высшие жирные кислоты: октадекатриен - 3, транс, 4 - цис, 12 - овая - 9.9 % (Растительные...,1993).

**1.3 Применение травы лопуха в народной медицине, результаты клинических испытаний**

Уже в древности лопух отмечали как лекарственное растение. В своей работе "Materia medica" его упоминает Диоскорид. Из летописей известно, что в лекарственных целях широко использовал лопух врач Александра Невского (Кузнецова М.А., Резникова А.С., 1992). Из этого следует, что обширное распространение, наличие приличной биомассы, разнообразный спектр действия обусловили широкое использование растений рода лопух в народной медицине, причем наиболее распространенные - лопух войлочный, лопух большой, лопух малый применяются равнозначно (Растительные..., 1993).

Химический состав определяет биологическую активность: так в народной медицине используют листья лопуха для лечения опухоли путем прикладывания их к пораженным местам (Ковалева Н.Г., 1972).

Лопух применяют при простудных заболеваниях (Петкова В.,1982), а также при начальных формах заболеваний верхних дыхательных путей (бронхов, легких); при отеках горла применяют свежие листья или сок консервированный на 40 % этаноле, прикладывают к горлу как компресс (Попов А.П., 1993).

Свежие листья вместе с листьями мать - мачехи прикладывают к груди при мастите (Петкова В.,1993).

Листья, смазанные свежей сметаной применяют при рожистом воспалении, больного обертывают на ночь простыней, смоченной в настое в течении 2 - 3 недель. Таким способом лечат и рецидивирующий ревматизм.

При воспалении слизистых оболочек (рта, десен, горла, внутренних женских половых органов, при гингивитах, стоматитах) полезен свежий сок, можно и консервированный на 40 % этаноле, разведенный 1 : 10, в виде полоскания.

В последнем случае полезно и внутрь принимать этот же сок, но не разведенный, по 20 капель 3 раза в день. Для лечения воспалительных заболеваний полости рта сок из свежих листьев лопуха используется в виде полосканий, промываний, примочек (Пашинский В.Г., 1989; Лагерь А.А., 1992).

Установлено антибактериальное действие свежих листьев, они улучшают обменные процессы в организме, рекомендуются при трофических язвах, их используют при лихорадке (Минаева В.Г.,1991), а также лопух используют как наружное средство для снятия высокой температуры, накладывая свежие листья на тело.

Лопухом лечат головную боль воспалительного характера и мигрень, при этом свежие листья прикладывают к голове (Петкова В.,1982; Полов А.П.,1993).

Свежими листьями (нижней стороной) оборачивают суставы при ломоте, ревматизме, подагре, при радикулите в течении всего весенне - летнего периода (Ковалева Н.Г.,1972; Петкова В., 1982). Применяется также при лечении артритов, в основном используется наружно в виде компрессов, втираний, обертываний свежими листьями и ванн (Пашинский В.Г., 1989).

Их используют в китайской медицине как противоядие,при укусах ядовитых змей и других насекомых.

Очень интересно применение лопуха в народной медицине для лечения опухолей. Отвар листьев лопуха малого, собранного во время цветения, пьют в Белоруссии как чай при злокачественных опухолях (Балицкий К.П., Воронцова А.Л.,1982; Растительные...,1993).

Так же сок из растения самостоятельно и в сочетании с соком других растений - хорошее профилактическое средство от рака, особенно в пожилом возрасте (Решетняк В.В., Цигура Н.В.,1992).

Лопух применяют как средство для лечения почечно - каменной болезни, он способствует растворению и выведению камней из почек и мочевых путей (Гриневич М.А.,1990; Пашинский В.Г.,1989).

Используют лопух при глистах (Решетняк В.В., Цигура Н.В.,1992).

При кожном зуде прикладывают листья, смоченные или растертые в молоке.

В народной медицине отвар, настой используют при гипертиреозе. Он применяется при асците, энтероколитах, сопровождающихся запорами, остеохондрозе, вагините, кольпите, как лактогенное и антиалкогольное средство. Лопух войлочный обладает антиоксидантными свойствами (Растительные...,1996).

Отвар лопуха эффективен при запорах (10 : 250). Одну чайную ложку семян лопуха настаивают несколько часов в 250 - 500 мл воды, потом кипитят 5 - 7 минут и выпивают в течении дня (Губергриц А.Я. и Сололченко Н.И.,1990; Петкова В.,1982).

Семена рекомендуются как популярное народное средство, оздоравливающее весь организм, в через то формирующий и стул. Кроме того, если употреблять семена, обладающие слабительным действием, они будут увеличивать эффект.

Применяют лопух при различных заболеваниях: желудочно - кишечных, заболеваниях печени, почек, мочевого пузыря, ревматизме, подагре, водянке, золотухе, рахите, сахарном диабете, а так же как ранозаживляющее, кровоочистительное, мочегонное, потогонное средство, для регуляции обмена веществ.

Результаты апробации экстракта из листьев лопуха войлочного на 70 % - ном этаноле на противолямблиозную активность на 14 детях от 3 до 14 лет показали высокую эффективность препарата.

## 1.4 Характеристика лямблиоза

## 1.4.1 Строение

**Лямблия (Lamblia intestinalis)** впервые была описана в 1859 г. русским ученым Д. Ф. Лямблем, в честь которого она и получила свое название.

Лямблия существует в виде вегетативной формы и цисты. Вегетативная форма активная, подвижная, грушевидная, передний конец тела закруглен, задний заострен. Длина 9 - 18 мкм.

В передней части тела находится присасывательный диск - в виде углубления. Лямблия имеет 2 ядра, 4 пары жгутиков. При наблюдении в живом состоянии движение ее очень характерное, паразит все время переворачивается боком. В препарате при комнатной температуре лямблии быстро погибают. Пищу всасывают всей поверхностью. Размножаются продольным делением.

Цисты - это неподвижные неактивные формы паразита. Длина цист 10 - 14 мкм. Форма овальная. Оболочка сравнительно толстая, хорошо очерчена, часто в значительной своей части как бы отслоена от тела самой цисты. Этот признак помогает отличать цисты лямблии от других сходных образований.

В растворе Люголя цисты окрашиваются в желтовато - коричневатый цвет. Окрашивание позволяет видеть 2 - 4 ядра в зависимости от степени зрелости цисты.

**1.4.2. Цикл развития**

Лямблии обитают в верхнем отделе тонкого кишечника. С помощью присасывательного диска они прикрепляются к ворсинкам. В желчном пузыре лямблии не живут, так как желчь на них действует губительно. Частые находки их при дуоденальном зондировании объясняются тем, что лямблии попадают в содержимое двенадцатиперстной кишки с ее стенок.

Обычно вегетативные формы лямблии с испражнениями не выделяются, однако при поносах их можно обнаружить в свежевыделенных жидких фекалиях. Лямблии, попадая в нижние отделы кишечника, где условия для них неблагоприятны, превращаются в цисты, которые и выделяются обычно с испражнениями. Цисты хорошо сохраняются во внешней среде, в зависимости от влажности и окружающей температуры - до месяца. При высушивании цисты погибают очень быстро. Заражение может произойти через загрязненную воду, пищу, грязные руки и игрушки, при этом цисты в кишечнике превращаются в вегетативные формы.

**1.4.3. Диагностика и лечение лямблиоза**

Вопрос патогенности лямблиозной инвазии остается опорным. Однако многолетние наблюдения над больными позволили считать лямблии возможным возбудителем заболеваний кишечника и гепатобилиарной системы, а бессимптомность некоторых случаев лямблиоза считать не доказательством их апатогенности, а расценивать как малосимптомные гельминтозы. Роль лямблий в развитии заболеваний билиарной системы может быть только опосредованной через поражение тонкой кишки. Часто болезнь с самого начала приобретает хроническое течение. Нарушение режима питания, погрешности в диете, интеркуррентные заболевания, хронические очаги инфекции, явления пищевой и других видов аллергии, функциональные нарушения органов дуоденохоледохогепатопанкреатической зоны ведут к обострению заболевания. Так как лямблиоз - болезнь "грязных рук" (заражение происходит оральным путем при контакте ребенка с предметами, зараженными носителями паразита или при употреблении загрязненных пищи и воды), она часто встречается у других членов семьи и в детских коллективах, посещаемых этими больными.

**1.4.3.1. Клиническая картина**

Клиническая картина может быть очень разнообразной, но чище других диагностируются симптомы, составляющие болевой, диспептический, интоксикационный синдромы и явления вегетодистонии. При сборе анамнеза наиболее часто отмечаются симптомы гепатобилиарной патологии и дуоденита: боли в области пупка и правом подреберье, усиливающиеся после употребления в пищу жирных, зажаренных, острых продуктов, грубой пищи, после физической, умственной и эмоциональной нагрузки: плохой аппетит, тошнота, поносы, запоры, явления метеоризма, а также недомогание и головная боль. Реже больных детей беспокоит гипертермия, рвота, икота, горечь во рту, отрыжка, боли в области сердца. При объективном осмотре обращают на себя внимание симптомы хронической интоксикации: бледность кожных покровов лица, синева под глазами, часто небольшое похудание, изменения со стороны сердечно-сосудистой системы в виде урежения, реже учащения пульса, приглушения тонов, появления функционального систолического шума, повышения, реже понижения АД, красного дермографизма и болевого синдрома: напряжение и болезненность при пальпации в правом подреберье, зоне Шоффара, болезненность и урчание по ходу кишечника. Из патологических симптомов, как правило, бывают положительные симптомы Кера, Гауссмана, Мерфи, реже - Ортнера, Мюсси, Менделя, Мейо - Робсона, Кача, Поргесса, Образцова, Керте и др. У третьей части детей с лямблиозом замечается увеличение размеров печени, чаще всего вследствие дискенезий желчевыводящих путей застойного характера. У многих детей в период обострения процесса отчетливыми становятся атомы полигиповитаминоза, дисбактериоза, вегето - сосудистой дистонии, что должно находить отражение в лечении этих больных.

**1.4.3.2. План обследования**

План обследования остается прежним. Несомненно, что наилучшую информацию для постановки диагноза лямблиоза имеют анализы кала на яйца глист 3 - кратно и данные дуоденального зондирования. Никакие сверхсовременные методы обследования не могут заменить, эти традиционные методы в обнаружении паразитов и простейших. Для общего анализа крови характерны эозинофилия, лимфо- и моноцитоз, реже - лейкоцитоз, ускоренная СОЭ. В биохимическом анализе крови чаще появляются нарушение белкового и жирового обмена в печени (умеренная диспротеинемия со снижением альбуминов и повышением α и β - глобулинов, увеличение холестерина).

В нарушении ритма желчевыделения более характерны для спазм сфинктерного аппарата желчевыводящей системы и гипотония желчного пузыря, что в свою очередь обуславливает замедление скорости вытекания порции "В" и удлиняет длительность всего зондирования. Микроскопия желчи позволяет обнаружить лямблии в порциях, явление дискринии (кристаллы холестерина и билирубината кальция), а также повышенное содержание лейкоцитов и слизи.

Оценка результатов желудочного зондирования у детей с лямблиозом показывает, что в 23 % случаев произошло повышение кислотообразующей функции желудка, а в 15 % - ее понижение. Нарушение секреторной функции наблюдается относительно редко. Из типов секреции преобладают инертный и нормальный. Функциональные нарушения печени, желудка и других органов пищеварения обусловлены у детей с лямблиозом преимущественно растройством регуляторной функции 12-перстной кишки, играющей роль своеобразного "пульта управления" пищеварительного тракта.

У половины детей, больных лямблиозом, диагностируются не только физикальные изменения со стороны сердечно - сосудистой системы, но и нарушения показателей электрокардиограммы: изменения хода возбуждения по миокарду желудочков, синусовая аритмия; а у третьей части детей - нарушение обменных процессов в миокарде. В патогенезе сдвигов в сердечно - сосудистой системе имеют значение изменения трофических процессов, тонуса вегетативной нервной системы, а также особенности развития больных детей, моменты адаптации детского организма на патологический процесс и поломка приспособительных механизмов.

Изучение состава желчи показывает, что лямблиоз у детей сопровождается достоверным нарушением концентрации в порциях всех основных компонентов желчи; содержание билирубина и жирных кислот снижается, белка - повышается, холестерин у большинства больных повышен, а у некоторых - снижен, из жирных кислот наибольшее снижение претерпевают гликохолаты, в белковом спектре отмечается диспротеинемия с повышением глобулиновых фракций и понижением альбуминовых.

Наибольшие нарушения диагностируются в пузырной порции, меньше меняются показатели печеночной желчи. Снижение лизоцимной активности также более выражено в пузырной порции и меньше - в печеночной. При изучении электролитов в дуоденальном содержимом отмечена тенденция к снижению К, a Na и Са - к повышению. Металлокомплексы трансферрин, церулоплазмин умеренно повышаются.

Схема комплексного этиопатогенетическоголечения при лямблиозе известна:

1) диета № 5 (ограничить сладкое) и режимные моменты;

2) витаминотерапия;

3) легкая седативная терапия;

4) противолямблиозные препараты (тинидазол, трихопол, фуразолидон);

5) десенсибилизирующие средства (супрастин, тавегил, задитен, димедрол, пипольфен и др.);

6) спазмолитики;

7) желчегонные средства (холеретики и холекинетики);

8) фитотерапия (желчегонные и противовоспалительные травы);

9) физиотерапия (чаще электрофорез со спазмолитиками в период обострения и тепловые и физиопроцедуры в период стихания процесса);

10) лечебная физкультура;

11) прием минеральной воды;

12) при необходимости - лечение дисбактериоза, санация хронических очагов инфекции, общеукрепляющие средства, терапия, направленная на устранение функциональных нарушений, выявленных со стороны других органов и систем организма (Генис Д. Е., 1979; Худякова Н. В.,Филиппов Г. П., Горленко Л. В., Ковалевская Р. А., Шалыгин В. А., 1994).

**Часть 2. Экспериментальная часть**

2.1. Характеристика товароведческих показателей листьев лопуха войлочного

2.1.1. Внешние признаки

Цельное сырье. Смесь цельных или частично измельченных листьев, свернутых в комочек. Листья черешчатые, яйцевидные с сердцевидным основанием, цельно - крайние или расставлено - зубчатые, на верхушке тупые, с насаженным остроконечием. Цвет листьев сверху зеленый. Они голые или слегка опушенные с прижатыми волосками, снизу густо, серовато - или беловато -паутинисто - войлочные.

Измельченное сырье. Кусочки листьев различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет серовато - зеленый. Запах отсутствует. Вкус слабо - горьковатый.

Для характеристики растительного сырья определяют следующие числовые показатели: влажность, зола общая и нерастворимая в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, экстрактивные вещества по методам Государственной фармакопеи СССР XI изд. (1987, 1990 г.).

**2.1.2. Определение влажности сырья**

Под влажностью понимают потерю в массе за счет гигроскопической влаги и летучих веществ, которую определяют в сырье при высушивании до постоянной массы.

1.0 г сырья (точная масса) отвешивают в высушенный до постоянной массы бюкс и определяют влажность по ГФ СССР XI (1987). Полученные результаты представлены в таблице № 1.

**Таблица 1**

## Содержание влаги в листьях лопуха войлочного

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | | Масса сырья, в граммах | | | | Разность в граммах | | Влажность, % | |
| до  высушивания | | после высушивания | |
| 1 | | 0.9968 | | 0.9085 | | 0.0883 | | 8.85 | |
| 2 | | 0.9989 | | 0.9100 | | 0.0889 | | 8.89 | |
| 3 | | 0.9920 | | 0.9040 | | 0.0880 | | 8.87 | |
| 4 | | 0.9940 | | 0.9067 | | 0.0873 | | 8.87 | |
| 5 | | 0.9954 | | 0.9047 | | 0.0889 | | 8.93 | |

**Вывод:** влажность листьев лопуха войлочного составляет 8.88%.

**2.1.3. Определение золы**

Около 3 г измельченных листьев лопуха войлочного (точная масса) помещают в предварительно прокаленный и точно взвешенный фарфоровый тигель, равномерно распределяя их по дну тигля. Затем тигель осторожно нагревают, давая веществу сначала сгореть или улетучиться при возможно более низкой температуре. Сжигание оставшихся частиц угля надо тоже вести при возможно более низкой температуре; после того как уголь сгорит почти полностью, увеличивают пламя.

При неполном сгорании. частиц угля остаток охлаждают, смачивают водой или насыщенным раствором аммония нитрата, выпаривают на водяной бане и остаток прокаливают. В случае необходимости такую операцию проводят несколько раз.

Прокаливание ведут при слабом красном калении (около 500 С) до постоянной массы, избегая сплавления золы и спекания ее ее стенками тигля. По окончании прокаливания тигель охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Результаты представлены в таблице № 2

**Таблица № 2**

**Содержание золы в листьях лопуха войлочного**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Масса сырья до сжигания, г | Масса золы, г | Количество золы, % |
| 1 | 3.0288 | 0.3778 | 12.47 |
| 2 | 3.1344 | 0.4628 | 14.76 |
| 3 | 3.0288 | 0.3554 | 11.73 |
| 4 | 3.0461 | 0.3870 | 12.70 |
| 5 | 3.1241 | 0.4141 | 13.25 |

**Вывод:** Содержание золы в листьях лопуха войлочного составляет 12.98 %.

2.1.4. Определение золы, нерастворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты

К остатку в тигле, полученному после сжигания листьев лопуха войлочного, прибавляют 15 мл 10 % раствора хлористоводородной кислоты, тигель накрывают часовым стеклом и нагревают 10 мин на кипящей водяной бане. К содержимому тигля прибавляют 5 мл кипящей воды, обмывая ею часовое стекло. Жидкость фильтруют через беззольный фильтр, переносят на него остаток с помощью горячей воды. Фильтр с остатком промывают горячей водой до отрицательной реакции на хлориды в промывной воде, переносят его в тот же тигель, высушивают, сжигают, прокаливают, как указано выше, и взвешивают.

Результаты представлены в таблице № 3.

**Таблица 3**

**Содержание золы, нерастворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, в листьях лопуха войлочного**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Масса золы до сжигания, г | Масса золы, нерас - ой в HCL, % | Кол - во золы, нерастворимой в HCL, % |
| 1 | 0.3778 | 0.0188 | 0.62 |
| 2 | 0.4628 | 0.0182 | 0.58 |
| 3 | 0.3554 | 0.0137 | 0.45 |
| 4 | 0.3870 | 0.0162 | 0.53 |
| 5 | 0.4141 | 0.0172 | 0.55 |

**Вывод:** Листья лопуха содержат золу нерастворимую в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, в количестве 0.54 %.

2.1.5. Определение содержания экстрактивных веществ в листьях лопуха войлочного

Определение экстрактивных веществ в сырье проводят в случае отсутствия в нормативной документации метода количественного определения действующих веществ.

Около 1 г измельченного сырья (точная масса), просеянного сквозь сито с диаметром отверстия 1 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 200 - 250 мл, прибавляют 50 мл растворителя (вода, этанол 25 %, 40 %, 70 %), колбу закрывают пробкой, взвешивают (с погрешностью 0,01 г) и оставляют на 1 ч. Затем колбу соединяют с обратным холодильником, нагревают, поддерживая слабое кипение в течение 2 ч. После охлаждения колбу с содержимым вновь закрывают той же пробкой, взвешивают и потерю в массе восполняют растворителем. Содержимое колбы тщательно взбалтывают и фильтруют через сухой бумажный фильтр в сухую колбу вместимостью 150 - 200 мл, 25 мл фильтрата пипеткой переносят в предварительно высушенную при температуре 100 - 105° С до постоянной массы и точно взвешенную фарфоровую чашку диаметром 7 - 9 мл и выпаривают на водяной бане досуха. Чашку с остатком сушат при температуре 100 - 105 °С до постоянной массы, затем охлаждают в течение 30 мин в эксикаторе, на дне которого находится безводный кальция хлорид, и немедленно взвешивают.

Содержание экстрактивных веществ в процентах (X) в пересчете на абсолютно - сухое сырье вычисляют по формуле:

**Х = [М \* 200 \*100] / [М1 \* (100 - W)],**

где М - масса сухого остатка в граммах, М1 - масса сырья в граммах, W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Содержание экстрактивных веществ в листьях лопуха войлочного, извлекаемых 25 %, 40 %, 70 % этанолом и водой, представлены в таблице № 4.

**Таблица № 4**

**Содержание экстрактивных веществ в листьях лопуха войлочного, извлекаемых 25 %, 40 %, 70 % этанолом и водой**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Содержание экстрактивных веществ, % | Экстрактивные вещества, извлекаемые | | | |
| водой | 25 % | 40 % | 70 % |
| 20.38 | 9.81 | 13.86 | 12.61 |

**Вывод:** наибольшееколичество экстрактивных веществ извлекается водой, спиртом различной концентрации, извлекается в пределах 9.81 – 13.86 %.

2.2. Разработка рациональной лекарственной формы из листьев лопуха войлочного

2.2.1. Получение жидких экстрактов из листьев лопуха войлочного (1:1) на 25, 40, 70 % этаноле

Жидкий экстракт лопуха войлочного (1 : 1) получают методом реперколяции по Н. А. Чулкову в батарее из 5 - ти перколяторов с законченным циклом.

В каждый перколятор загружают по 50 г листьев. “На зеркало” затрачено 370 мл 25 %, 40 % и 70% этанола, что соответствует содержанию безводного этанола 92.5 , 148.0 и 259.0 мл.

На ложное дно подготовленного перколятора загружают 50 г предварительно замоченного сырья, слегка утрамбовывают и подают экстрагент до зеркала, настаивая 24 часа.

На 2 - ой день во 2 - ой перколятор загружают 50 г, предварительно замоченного экстрактом из 1 - го перколятора сырья. Из ранее загруженного перколятора №1 вытесняют свежим экстрагентом извлечение и подают его на загруженное сырье перколятора № 2. Уровень зеркала в перколяторах № 1 и 2 выравнивают. Настаивают 24 часа. Аналогично вышеописанному загружают перколяторы № 3 и № 4 на 3 - ий и 4 - ый день работы. На 5 - ый день в перколятор № 5 загружают 50 г сырья, заливают его извлечением из перколятора № 4, делая передвижку из перколятора № 4 в перколятор № 5, из № 3 в № 4, из № 2 в № 3, из № 1 в № 2.

В первый перколятор подают свежий экстрагент. Все пять перколяторов залиты до зеркала и настаивают 24 часа.

С шестого дня начинается рабочий период. Из первого перколятора сливают и регенерируют этанол, промывая шрот водой. Шрот выгружают и подготавливают перколятор № 1 к новой загрузке. Производят передвижку извлечений. В № 1 загружают 50 г сырья и заливают извлечением перколятора № 5. Перколятор № 1 становится головным, а перколятор № 2 - хвостовым. Для максимального извлечения действующих веществ из листьев лопуха перколятор № 2 заливают свежим экстрагентом и передвигают в перколятор № 3.

После чего перколятор № 2 отключают от батареи на регенерацию этанола и выгрузку шрота. Аналогично загрузке перколятора № 1 загружают перколяторы № 2, 3, 4, 5. В продолжение всей работы рабочего периода один перколятор находится под выгрузкой истощенного сырья и загрузкой свежего. Свежий экстрагент всегда поступает в "хвостовой" перколятор с максимально - истощенным сырьем.

Концентрированное извлечение сливают с головного перколятора со свежим растительным материалом. Все диффузоры последовательно становятся "хвостовыми" и "головными". Выход жидкого экстракта лопуха с одного перколятора состовляет 50 мл.

**Остановочный период.**

По окончании технологического процесса производства жидкого экстракта лопуха "хвостовые" перколяторы отключают, но новых перколяторов со свежим сырьем не включают. С каждого перколятора ежедневно сливают слабые извлечения, которые собирают отдельно и используют при последующих загрузках в производстве жидкого экстракта лопуха.

Полученные экстракты (1:1) в объеме 500 мл, изготовленные на 25 %, 40 % и 70 % этаноле, отстаивают 2 - 3 дня при 8 - 12° С, фильтруют и подвергают стандартизации по содержанию этанола, сухого остатка, тяжелых металлов (Новицкая С. Я., Борзунов Е. Е., Сафиулин Р. М., 1969)

2.2.2. Стандартизация жидких экстрактов листьев лопуха войлочного на 25, 40, 70 % этаноле

Описание: жидкость со специфическим запахом, горького вкуса. 25 % экстракт имеет окраску коричневого цвета с красноватым оттенком. У 40 % экстракта буро - коричневый цвет, 70 % экстракт темно - коричневого цвета.

2.2.2.1. Определение концентрации этанола в жидком экстракте листьев лопуха

В круглодонную колбу вместимостью 200 - 250 мл отмеривают точное количество экстракта. При содержании этанола выше 50 % отмеривают 25 мл жидкого экстракта, которые перед отгонкой разбавляют водой до 75 мл.

Для равномерного кипения в колбу с жидкостью помещают капилляры, пемзу или кусочки прокаленного фарфора.

Приемник (мерную колбу вместимостью 50 мл) помещают в сосуд с холодной водой, собирают около 48 мл отгона, доводят его температуру до 20 °С и добавляют воды до метки. Отгон должен быть прозрачным или слегка мутным.

Плотность отгона определяют денсиметром или с помощью пикнометра при температуре 20 °С и по алкоголиметрической таблице № ГФ XI находят соответствующее содержание этанола в процентах по объему.

Содержание этанола (X) в процентах по объему вычисляют по формуле:

**Х = 50 \* а / б,**

где 50 - объем отгона в мл, а - содержание этанола в процентах по объему, б - объем исследуемого экстракта, взятый для отгона, мл.

**2.2.2.2. Определение плотности жидкого экстракта**

Чистый сухой пикнометр взвешивают с точностью до 0.0002 г, заполняют с помощью маленькой воронки очищенной водой немного выше метки, закрывают пробкой и выдерживают в течение 20 минут в термостате, в котором поддерживают постоянную температуру воды 20°C с точностью до 0.1 °С. При этой температуре уровень воды в пикнометре доводят до метки, быстро отбирая излишек воды при помощи пипетки или свернутой в трубку полоской фильтровальной бумаги. Пикнометр снова закрывают пробкой и выдерживают в термостате еще 10 мин., проверяя положение мениска по отношению к метке. Затем пикнометр вынимают из термостата, фильтровальной бумагой вытирают внутреннюю поверхность горлышка пикнометра, а также весь пикнометр снаружи, оставляют под стеклом аналитических весов в течение 10 мин. и взвешивают с той же точностью.

Пикнометр освобождают от воды, высушивают, споласкивая последовательно этанолом и эфиром (сушить пикнометр путем нагревания не допускается), удаляют остатки эфира продуванием воздуха, заполняют пикнометр испытуемой жидкостью и затем производят те же операции, что и с очищенной водой.

Плотность Р (г / куб. см) вычисляют по формуле :

**Р20 = [[(M2 - М) \*0.99703] / (M1 - M)] + 0,0012,** где

М - масса пустого пикнометра, г;M1 - масса пикнометра с очищенной водой, г; М2 - масса пикнометра с испытуемой жидкостью, г; 0.99703 - значение плотности воды при 20 °С и барометрическом давление 1011 гПа (760 мм рт. ст.)

**2.2.2.3. Определение сухого остатка.**

5 мл жидкого экстракта помещают во взвешенный бюкс, выпаривают на водяной бане и сушат 3 ч. при (102.5 ± 2.5) °С, затем охлаждают в эксикаторе 30 мин. и взвешивают.

**2.2.2.4. Определение тяжелых металлов**

К 1 мл жидкого экстракта или 1 г густого или сухого экстракта прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, осторожно сжигают и прокаливают. Полученный остаток обрабатывают при нагревании 5 мл насыщенного раствора аммония ацетата. Фильтруют через беззольный фильтр, промывают 5 мл воды и доводят объем фильтрата до 200 мл 10 мл полученного раствора должны выдерживать испытания на тяжелые металлы (не более 0.01 % в препарате).

Результаты анализов по стандартизации жидких экстрактов лопуха войлочного на 25, 40, 70 % этаноле представлены в таблице № 5.

**Таблица 5**

**Стандартизация жидких экстрактов листьев лопуха войлочного, изготовленных на 25 %, 40 % и 70 % этаноле**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Экстрагент | Концентрация этанола, % | Сухой остаток, % | Плотность, г / см | Тяжелые металлы, % |
| 25 % | 22.31 | 10.22 | 0.971 | не более 0.01 |
| 40 % | 36.89 | 11.41 | 0.968 | не более 0.01 |
| 70 % | 64.21 | 12.05 | 0.945 | не более 0.01 |

**Вывод:** жидкие экстракты на 25, 40, 70 % этаноле удовлетворяют требованиям ГФ XI.

**2.3. Исследования противовоспалительных свойств сухих экстрактов листьев и корней, полученных на 25 %, 40 %, 70 % этаноле, сухого водного раствора извлеченног из листьев лопуха войлочного**

**2.3.1. Характеристика воспалительного процесса**

Воспаление является защитно-приспособительной реакцией организма при различных повреждениях. Однако в ряде случаев восстановительные процессы переходят из нормальных в патологические и участвуют в формировании многих заболеваний. Воспалительный процесс - результат взаимодействия флогогенного начала и макроорганизма. Участие последнего зависит прежде всего от его реактивности, которая определяется состоянием регуляторных систем как высших, дистальных - нервной, эндокринной, иммунной, так и местных - физиологически активных веществ, выступающих в очаге воспаления в качестве медиаторов и модуляторов воспаления [Дыгай А.М., Клименко Н.А., 1992]. Большинство авторов в развитии воспаления выделяют следующие классические стадии: 1) повреждение тканей и клеток; 2) выделения медиаторов и реакция микроциркуляторного русла (сосудистая фаза); 3) проявления повышенной проницаемости - экссудации, миграции клеточных элементов (сосудисто-клеточная фаза); 4) пролиферация с последующей репарацией (фаза реконструкции) . При воздействии химического и физического раздражителя вслед за разрушением тканей (первичной альтерацией) происходит экссудация, затем - пролиферация и репарация, тогда как при действии биологических агентов процесс начинается чаще с экссудации, далее наступает расплавление тканей (вторичная альтерация) с последующей пролиферацией и репарацией. Вид воспаления зависит от причины, вызывавшей его, особенностей пораженной ткани, реактивности организма и др. На модели каррагенинового воспаления наблюдается три фазы выделения медиаторов: в первую фазу высвобождается гистамин и серотонин, во вторую - кинины. Простагландины являются посредником поздней фазы воспаления, развивающегося при каррагениновом отеке через 3 часа, максимум концентрации ПГЕ2 - через 12 - 24 часа. Активация этой третьей фазы воспаления зависит от включения в процесс системы комплемента [Чернух А.М., 1979]. Защитные реакции регулируются и нервно - гуморальными механизмами. В результате интеграции каскада реакций возникает комплекс сосудистых и клеточных реакций, характеризующих острое воспаление. При последующей ликвидации патогенетического агента развивается заключительная фаза воспалительного процесса - репарация, которая заканчивается заживлением дефектов ткани и прекращением реакций. Восстановительную (регенерационную) стадию воспаления лучше всего рассмотреть на модели заживления раневого повреждения, причем асептическая рана, в случае заживления первичным натяжением, имеет менее выраженную воспалительную реакцию, чем при заживлении вторичным натяжением [Фенчин К.М., 1979]. Для последнего характерно заживление раны вследствие выполнения дефекта грануляционной тканью, которая развивается в условиях открытого дефекта, она всегда соприкасается со внешней средой, будучи долго не покрытой эпителием, в то время как молодая соединительная ткань при первичном натяжении развивается под струпом или в условиях зашитой раны [Есипова И.К., 1966]. Если организм не способен удалить источник раздражения, то увеличивается выход в очаг воспаления полиморфноядерных лейкоцитов и выделение из них большого количества лизосомальных энзимов, вызывающих деструкцию тканей и развитие неспецифического хронического воспаления [Тринус Ф. П. и др., 1987]. В общем хроническое воспаление отличается тканевым ответом, характерным своей длительностью, развитием моноцитарного инфильтрата и пролиферацией соединительной ткани. Различают первичное хроническое воспаление и вторичное. Если повреждающий агент, вызывающий воспаление продолжает находиться в тканях, то развивается гранулема (гранулематозное воспаление). Развитие гранулемы является фазным: а) вокруг возбудителя образуется инфильтрат юных мононуклеарных фагоцитов; б) далее происходит созревание и скопление (агрегация) этих клеток с образованием зрелой гранулемы; в) дальнейшее созревание с формированием эпителиоидной гранулемы [Чернух А.М., 1979]. Развитие гранулемы происходит путем экссудации и пролиферации. Уже к 7 дням (а иногда и раньше) организуется зрелая гранулема (типа чужеродного тела). Существенное значение в патогенезе хронического воспаления принадлежит взаимодействию макрофагов и компонентов комплемента. На ранних этапах формирования гранулемы ведущая роль отводится метаболизму сульфатированных гликозаминогликанов.

Таким образом, воспаление - сложный многоступенчатый процесс, представляющий собой динамический каскад биологических причинно - следственных явлений, проходящих в своем развитии через ряд стадий и фаз. Фармакодинамику противовоспалительных средств необходимо исследовать с учетом фазности воспалительных изменений и значения тех или иных процессов в развитии этих фаз [Тринус Ф.П. и др., 1987].

**2.3.2 Материалы и методы исследования**

Для исследования были использованы сухие экстракты и сухие водные извлечения, полученные ранее другими дипломниками.

Опыты проводили на белых неинбредных мышах массой 20 - 25 гр. и крысах линии Wistar массой 250 - 300 гр., полученных из коллекционного фонда НИЛ экспериментального биомедицинского моделирования ТНЦ СО РАМН (сертификат имеется).

Острое асептическое воспаление вызывали введением под плантарный апоневроз левой задней лапки 1 % раствор каррагенина в объеме 0.05 мл мышам и 0.1 крысам . Величину отека определяли по разности масс воспаленной и невоспаленной лап животного, процент прироста рассчитывали по формуле:

масса больной \_\_ масса здоровой

конечности конечности

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ х 100%

масса здоровой конечности

Репаративная способность препаратов изучена на модели заживления кожного повреждения [Фенчин К.М., 1979]. На депилированном участке кожи спины у мышей под легким эфирным наркозом вырезали лоскут кожи размером 10 x 10 мм. Для моделирования более длительного заживления струп регулярно (через сутки) снимали. О ходе заживления судили по среднему диаметру раны и срокам полной грануляции и эпителизации раневого дефекта. Укорочение срока заживления ран расчитывали в процентах по формуле:

время полного заживления \_\_ время полного заживления

ран в контроле ран в опыте

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ х 100%

время полного заживления ран в контроле

Пролиферативное хроническое воспаление исследовали на модели "ватной" гранулемы. Стерильный ватный тампон (13 мг) имплантировали с помощью иглы (А1 -20 х 40 - 1 17 И25) крысам под кожу спины между лопатками. Исследуемые препараты вводились ежедневно со дня трансплантации в течение 7 дней. На 8 сутки животных забивали, гранулема вычленялась, взвешивалась в сыром и затем высушенном виде.

Умерщвление животных производили методом дислокации цервикального отдела позвоночника. Результаты исследований обрабатывались методом непараметрической статистики Вилкоксона - Манна - Уитни.

**2.3.3 Результаты исследования**

Изучение противовоспалительных и ранозаживляющих свойств растительных средств из лопуха войлочного проводили в условиях экспериментальных моделей патологических состояний у мышей и крыс. В работе воспроизводили острое асептическое воспаление (каррагениновое), хроническое пролиферативное ("ватная" гранулема) и регенерация кожного повреждения.

В первой серии экспериментов регенеративную активность препаратов исследовали на модели кожного "лоскута" у мышей. Для моделирования длительного заживления струпы периодически снимали. В связи с этим раны заживляли вторичным натяжением, для которого характерно развитие грануляционной ткани [Фенчин К.М., 1979]. Беспородные мыши - самки, используемые в эксперименте, получали сухой экстракт корней 70, сухой экстракт корней 40, сухой экстракт корней 25, сухой экстракт листьев 70, сухой экстракт листьев 40, сухой экстракт листьев 25. Для сопоставления фармакологической активности все препараты вводились в одной дозе - 50 мг / кг в лечебном режиме: через час после нанесения кожного повреждения, затем ежедневно однократно до момента заживления. Растительные средства вводились внутрижелудочно (per os). Измерение раны проводили сразу же после снятия струпа, длительность наблюдения - 20 дней. У контрольных животных, которым вводилась дистиллированная вода, полное заживление ран наблюдали на 20 сутки (табл. 6, прилож.). Существенную активацию регенерации вызвал сухой экстракт листьев 25 - уже с 5 дня раны в 1.2 раза были меньше контрольных, а на 15 сутки - полное заживление у всех животных, т.е. на 28.6 % сокращались сроки регенерации. Аналогично и сухой экстракт корней 25 на 5 и 8 день достоверно снижал средний диаметр раны в 1.2 и 1.4 раза соответственно, но судя по срокам заживления процент ускорения репарации составил 9.6 % , как и в остальных исследуемых группах (кроме сухого экстракта листьев 70).

Во второй серии экспериментов было изучено влияние растительных препаратов на хроническое воспаление, для воспроизведения которого использовали модель "ватной" гранулемы. Исследуемые извлечения вводились в меньшей дозе (25 мг / кг), с учетом коэффициента пересчета дозировки с мышей на крыс. Фитопрепараты и препарат сравнения - индометацин получали крысы -самки линии Wistar в лечебном режиме в течение 7 дней. Индометацин в исследуемой дозе обладал более выраженной антиэкссудативной активностью (37 % торможения), но не оказывал достоверного влияния на развитие грануляционной ткани (табл. 7, прилож.). Сухой экстракт корней 70 вызывал уменьшение массы сухого компонента на 21 % и на 26 % снижал содержание экссудата. Остальные извлечения из лопуха войлочного не оказали статистически значимого противовоспалительного эффекта на этой экспериментальной модели, хотя тенденция обнаружена у сухого экстракта корней 40 и сухого экстракта листьев 25.

Дальнейшие исследования проведены с препаратами, полученными на основе листьев лопуха. На модели острого асептического воспаления, вызванного каррагенином сравнивали противовоспалительное действие спиртовых извлечений (сухого экстракта листьев 40, сухого экстракта листьев 25) и сухого водного извлечения из листьев. Препараты вводились в широком диапазоне доз: 100 мг / кг; 50 мг / кг; 10 мг / кг; 1 мг / кг в превентивном режиме курсом в течение 5 дней, в последний день через час после препарата вводился каррагенин. Наилучшее противоотечное действие на этой модели оказал сухой экстракт листьев 40, т. к. три дозы препарата оказались эффективными (табл. 8, прилож.) наибольший противоэкссудативный эффект оказал этот препарат при введении его в дозе 50 мг / кг - 37 % торможения прироста веса лапки в сравнении с контрольными животными. Несколько ниже эффект при введении его в дозах 10 и 1 мг / кг - 25 и 26 % соответственно. Волнообразный характер противовоспалительных эффектов у сухого экстракта листьев 25 на 29 % снижался отек под действием препарата в дозах 100 и 10 мг / кг; отсутствие эффекта в дозах 50 и 1 мг / кг. Сухое водное извлечение из листьев на этой патологической модели не проявило противовоспалительной активности.

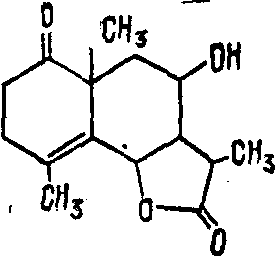
Таким образом, проведенные скрининговые исследования говорят о наличии фармакологической активности у спиртовых извлечений из лопуха войлочного. Неоднозначность эффектов говорит о их высокой избирательной активности зависящей от концентрации экстрагента и вида сырья. Так сухой экстракт корней 70 оказался более эффективным при хроническом воспалении, а сухой экстракт листьев 25 и сухой экстракт листьев 40 - при остром асептическом воспалении. Наилучший стимулятор репаративной регенерации - сухой экстракт листьев 25. Выявленная фармакологическая активность свидетельствует о перспективности данных препаратов и требует дальнейшего более углубленного их исследования.

**Часть 3. Выделение сесквитерпеновых лактонов**

**3.1. Общая характеристика**

К сесквитерпеновым лактонам относятся кислородосодержащие, производные сесквитерпеноидов, имеющие в своем составе 15 атомов углерода и 1 (реже 2) γ - лактонный цикл, а также, как правило, кетонную, гидроксильную, эпоксидную или сложноэфирную группы. Наряду с этим известно незначительное количество лактонов, содержащих хлор, серу, азот. В последнее время выделены соединения, состоящие из 30 атомов углерода и получившие название дисесквитерпеноидов.

Долгое время сантонин (сесквитерпеновый лактон), выделенный из соцветий цитварной полыни Artеmisia cina Berg., являлся единственным представителем этой группы соединений



γ - Сантонин(С15 Н20 О4)

С 1954 г., благодаря работам чешских ученых Ф. Шорм, В. Героута, число выделенных и изученных сесквитерпеновых лактонов стало быстро расти.

В настоящее время из растительных источникив выделено свыше 1200 лактонов различных типов. Указанный класс терпеноидов усиленно изучают во многих странах мира в связи с широким спектром их биологического действия - антигельминтного, кардио - тонического, противовоспалительного, анальгезирующего, противомалярийного, противоопухолевого и др.

Первым сесквитерпсновым лактоном, применявшимся как антигельминтное средство, был сантонин. Аналогичным действием обладает также геленин - сумма сесквитерпеновых лактонов из девясила высокого Inula helenium L., который более эффективен, чем сантонин, в особенности в детской практике. Сесквитерпеновый лактон тауремизин оказывает возбуждающее действие на кору головного мозга, урежает ритм сердечных сокращений, мягко повышает артериальное давление, значительно усиливает сокращение мышцы сердца, несколько увеличивает диурез и применялся в официальной медицине. Матрицип и матрикарин обладают противовоспалительной активностью, что связано со способностью матрицина легко превращаться в хамазулен. Последний малотоксичен, активирует процессы грануляции и эпителизации ран. Арнифолин в опытах на животных обнаружил тонизирующее действие на гладкую мускулатуру матки.

Известно, что многие лактоны, содержащие экзоциклическую метиленовую группу, проявляют цитотоксическую активность, хотя это и не является обязательным условием указанного эффекта. Количество лактонов, для которых установлено противораковое действие, уже перевалило за 70. Большинство из них относится к гермакранолидам (костунолид, алатолид, партенолид, элафантин, кницин, элеганин и др.), гвайанолидам (дезацетоксиматрикарин,. артеглазины А и В, гросгеймин, цинаропикрин, амброзин, геленалин, пауцин и др.). Внедрение этих соединений в медицинскую практику тормозится их весьма высокой токсичностью. С другой стороны, описаны γ - лактоны (например, гейгерин), стимулирующие процессы злокачественных новообразований. Установлена также антибактериальная и антипротозойная активность некоторых лактонов.

**3.2. Распространение в растительном мире**

Сесквитерпеновые лактоны широко распространены в природе и изучены в основном в высших растениях. Наиболее богатым является семейство Asteraceae (Compositae), в нем отличаются большим разнообразием содержащихся лактонов роды: Achillea, Acroptilon, Ambrosia, Artemisia, Helenium, Inula, Gaillardia, Matricaria, Saussurea. Из других семейств следует отметить Acanthaceae, Amarantaceae, Apiaceae (и его род Ferula), Aristolochiaceae, Canellaceae, Coriariaceae, Illiciaceae, Lauraceae, Lamiaceae (Labiatae), Magnoliaccae, Меnispermaceae, Polygoniaceae, Umbelliferae.

Из низших растений известны представители двух семейств, содержащих ' сескпитерпеновыс лактоны - Russulaceae и Frullaniaceae.

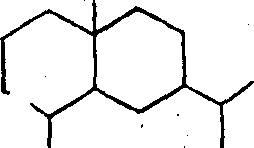
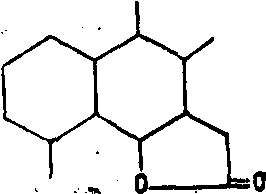
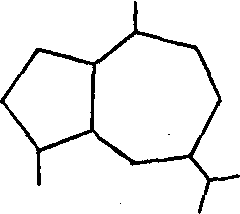
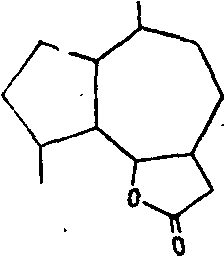
**3.3. Локализация в растениях**

Сесквитерпеповые лактоны могут накапливаться во всех органах растений, но большинство их выделено из надземной части.

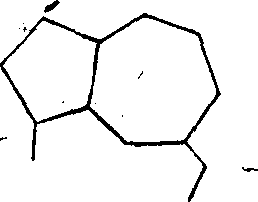
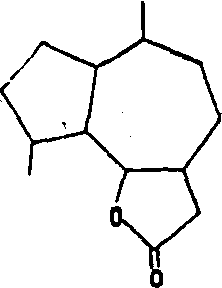
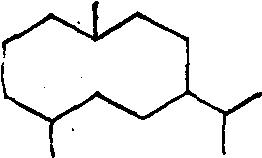
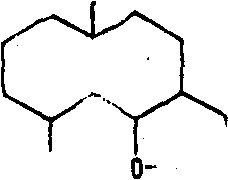
Более редки случаи выделения лактонов из подземных частей растений. В частности, из корней соссюреи репейниковой (лопуховидной) Saussurea lappa Clarke - растения, широко используемого в народной и официальной.медицине стран Востока, получены костунолид, дегидрокостуслактон, дигидрокостуслактон, мокколактон, сауссуреалактон, 12 -метоксидигидрокостунолид. Сумма сесквитерпеновых лактонов, называемых алантоном, изолирована из корней и корневищ девясила высокого. Кроме того, выделены сесквнтерпеновые лактоны из корней рода Ferula.

**3.4. Классификация**

По строению углеродного скелета все известные сесквитерпеновые лактоны подразделяют на 24 основных типа. Наибольшее их количество относится к типам гермакрана (гермакранолиды), гвайана (гвайанолиды), амброзана (амброзанолиды) и эвдесмана (эвдесманолиды):

Гермакран Гермакрноолиды Гвайана Гвайанолиды

Амброзан Амброзанолиды Эвдесман Эвдесманолиды

По строению углеродного скелета лактоны можно классифицировать как ациклические, моноциклические, бициклические и трицикличсские. Некоторые из них могут быть эстерифицированы по спиртовому гидроксилу.

Изредка встречаются гликозидированные лактоны, которые могут быть эстерифицированы по гидроксилам сахарного компонента.

**3.5. Физико - химические свойства**

Большинство лактонов - это твердые кристаллические вещества, реже - маслообразные жидкости, нерастворимые в воде и растворимые в органических растворителях: этаноле, хлороформе, диэтиловом эфире, гексане. На растворимость лактонов в воде значительное влияние оказывают сопутствующие экстрактивные вещества, в присутствии которых она резко повышается. На этом основан один из простых методов выделения. В водных растворах щелочей сесквитерпеновые лактоны растворяются вследствие раскрытия лактонного кольца и образования солей соответствующих кислот.

Лактоны не имеют общих свойств, которые можно было бы использовать при их выделении. Наиболее. достоверная информация может быть получена при ИК - спектроскопии извлечения из растений. С этой целью выделение лактонов производит по методу К. С. Рыбалко, который основан на способности этих соединений растворяться в горячей воде в присутствии других экстрактивных веществ с последующим извлечением их хлороформом.

Не исключается возможность проверки наличия сесквитерпеновых лактонов методом ИК - спектроскопии в других извлечениях, полученных при обработке сырья петролейным эфиром, хлороформом, этилацетатом, ацетоном, этанолом.

Лактоны содержат γ - лактонный цикл и поэтому имеют в ИК-спектре полосу поглощения лактонного карбонила в области 1740 - 1800 см - 1. Однако в области 1740 - 1750 см - 1 дает полосу поглощения также и карбонил δ - лактона кумаринов, сложных эфиров и др. Но кумарины и ароматические сложные эфиры отличаются еще наличием двух полос в анализируемой области: 1680 - 1750 (С = О) и 1600 - 1620 см - 1 (ароматическая С = С)*.* При отсутствии второй полосы в области 1600 - 1620 см - 1 полностью исключаются ароматические соединения, что указывает на возможность присутствия γ - лактонов; наличие же полос поглощения в области 1760 - 1800 см - 1 при возможной второй полосе в области 1610 - 1660 см - 1 свидетельствует о присутствии γ - лактонов, в молекуле которых имеются двойные связи в сопряжении; α - метилен - γ - лактонный цикл.

При исследовании лактонов методом тонкослойной хроматографии в качестве адсорбентов используется оксид алюминия IV степени активности или силикагель. Подвижной фазой могут служить следующие системы растворителей: бензол - этанол (9 : 1), бензол - метанол (9 : 1), бензол - бутанол (9 : 1), гексан - этилацетат (85 : 5), хлороформ - метанол (7 : 3), хлороформ - этилацетат (9 : 1), петролейный эфир - хлороформ - этилацетат (2 : 2 : 1), петролейный эфир - бензол - хлороформ (5 : 4 : 1) и др.

Проявляют хроматограммы чаще всего 1% раствором перманганата калия в 1 % растворе серной кислоты. Однако данный проявитель не специфичен для лактонов, так как с его помощью могут быть определены н другие ненасыщенные вещества. Из других проявителей можно отметить 1 % раствор ванилина в концентрированной серной кислоте и серную кислоту при нагревании.

**3.6. Методы выделения и разделения сесквитерпенопых лактонов**

Унифицированного метода выделения сесквитерпеновых лактонов не существует. В каждом отдельном случае, необходим конкретный подход. Значительное количество лактонов выделено хлороформом с последующим разделением полученного экстракта после удаления растворителя колоночной хроматографией.

В некоторых случаях малополярные лактоны извлекают петролейным эфиром (гексаном или гептаном). Сильнополярные соединения можно извлекать полярным растворителем (ацетоном или спиртом), в этих случаях сырье рекомендуется обезжирить предварительной экстракцией петролейным эфиром. Ацетоновые или спиртовые извлечения после удаления растворителя и разбавления водой необходимо подвергнуть фракционированию растворителями с увеличивающейся полярностью (петролейным эфиром, хлороформом, ди-этиловым эфиром), в полученных извлечениях следует искать лактоны методом ИК - спектроскопии. Для хроматографической очистки и разделения γ - лактонов путем колоночной хроматографии чаще всего используют нейтральный оксид алюминия (IV ст. акт., реже III) или силикагель. Лактоны элюируют растворителями с увеличивающейся полярностью или их смесями различных соотношениях [Рыбалко К. С., 1978].

**3.7. Выделение сесквитерпеновых лактонов из листьев лопуха войлочного**

300 грамм измельченных листьев лопуха помещают в колбу емкостью 5 л, добавляют 2 л хлороформа и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течении 1 часа. Хлороформное извлечение процеживают и процесс повторяют 3 раза.

После чего растворитель отгоняют, остаток трижды обрабатывают 60% - ным этанолом по 50 мл.

Полученную смесь фильтрованием через бумажный фильтр отделяют от осадка, разбавляют 100 мл воды и подвергают трехкратной экстракции хлороформом по 30 мл.

Хлороформное извлечение фильтруют через бумажный фильтр с безводным натрия сульфатом, растворитель отгоняют и в остатке получают порошок черного цвета.

**3.8. Хроматографическое исследование суммы лактонов из листьев лопуха войлочного**

Полученную смесь подвергают разделению колоночной хроматографией. Используются колонки (30 \* 0.5) с 12 г силикагеля L 100 / 250 для хроматографии (Chemapol, Чехословакия), в качестве элюента применяется бензол с постоянным добавлением этилацетата, объем фракции составляет 50 мл, растворитель отгоняется.

Результаты колоночной хроматографии отражены в таблице № 9.

**Таблица № 9**

**Результаты колоночной хроматографии хлороформного извлечения из листьев лопуха**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № фракций | Элюент | Внешний вид остатка |
| 1 | Бензол | Аморфный, слабо – желтый осадок |
| 2 | Бензол | Аморфный, слабо – желтый осадок |
| 3 | Бензол | Белый и слабо – желтый осадок |
| 4 | Бензол | Белый осадок |
| 5 | Бензол | Белый осадок с желтым оттенком |
| 6 | Бензол | Слабо – желтый осадок |
| 7 | Бензол | Слабо – желтый осадок |
| 8 | Бензол | Желтый осадок с зеленым оттенком |
| 9 | Бензол | Зеленый осадок |
| 10 | Бензол | Зеленый осадок |
| 11 | Бензол | Зеленый осадок |
| 12 | Бензол – этил ацетат(95 : 5) |  |
| 13 | Бензол – этил ацетат(95 : 5) | Зеленый осадок |
| 14 | Бензол – этил ацетат(95 : 5) | Зеленый осадок |
| 15 | Бензол – этил ацетат(95 : 5) | Желтый осадок |
| 16 | Бензол – этил ацетат(95 : 5) | Желтый осадок |
| 17 | Бензол – этил ацетат(95 : 5) | Желтый осадок |
| 18 | Бензол – этил ацетат(95 : 5) | Оранжевый осадок |
| 19 | Бензол – этилацетат(90 : 10) | Желтый осадок |
| 20 | Бензол – этилацетат(90 : 10) | Желтый осадок |
| 21 | Бензол – этилацетат(90 : 10) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 22 | Бензол – этилацетат(90 : 10) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 23 | Бензол – этилацетат(90 : 10) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 24 | Бензол – этилацетат(85 : 15) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 25 | Бензол – этилацетат(85 : 15) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 26 | Бензол – этилацетат(85 : 15) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 27 | Бензол – этилацетат(85 : 15) | Желтый осадок |
| 28 | Бензол – этилацетат(85 : 15) | Желтый осадок |
| 29 | Бензол – этилацетат(80 : 20) | Темно – зеленый осадок |
| 30 | Бензол – этилацетат(80 : 20) | Темно – зеленый осадок |
| 31 | Бензол – этилацетат(80 : 20) | Темно – зеленый осадок |
| 32 | Бензол – этилацетат(80 : 20) | Темно – зеленый осадок |
| 33 | Бензол – этилацетат(75 : 25) | Темно – желтый осадок |
| 34 | Бензол – этилацетат(75 : 25) | Желтый осадок |
| 35 | Бензол – этилацетат(75 : 25) | Желтый осадок |
| 36 | Бензол – этилацетат(70 : 30) | Желтый осадок |
| 37 | Бензол – этилацетат(70 : 30) | Желтый осадок |
| 38 | Бензол – этилацетат(70 : 30) | Темно – желтый осадок |
| 39 | Бензол – этилацетат(70 : 30) | Темно – желтый осадок |
| 40 | Бензол – этилацетат(70 : 30) | Темно – желтый осадок |
| 41 | Бензол – этилацетат(70 : 30) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 42 | Бензол – этилацетат(70 : 30) | Белый осадок |
| 43 | Бензол – этилацетат(65 : 35) | Белый осадок |
| 44 | Бензол – этилацетат(65 : 35) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 45 | Бензол – этилацетат(65 : 35) | Желтый осадок |
| 46 | Бензол – этилацетат(65 : 35) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 47 | Бензол – этилацетат(65 : 35) | Белый и слабо – желтый осадок |
| 48 | Бензол - этилацетат(65 : 35) | Белый осадок |

**3.9. ИК - спектроскопия суммы лактонов фракции 3 - 6 из листьев лопуха войлочного**

При ИК - спектроскопии остатка фракции 3 - 6 ( в виде таблеток с калия бромидом) обнаруживают следующие полосы поглощения:

1745 см - 1 - лактонный карбонил,

1411 см - 1 - экзоциклическая метиленовая группа,

1708 см - 1 - оксогруппа сложноэфирной связи,

3418 см - 1 - гидроксильная группа,

1411, 1097 см - 1 -

Полученные данные находятся в соответствии со структурой ранее выделенного из листьев лопуха сесквитерпенового лактона арктиопикрина.

По результатам хроматографии, на пластинках силуфол, в системе этанол - этилацетат – хлорофор (1 : 1 : 8) (проявитель: 1 % раствор калия перманганата в 1 % серной кислоты), были объединены фракции 3 - 6; 14 - 19; 20 - 25; 26 - 35; 36 - 48.

**Рисунок 1.**

**Результаты тонкосложной хроматографии суммы сесквитерпеновых лактонов из листьев лопуха войлочного (проявитель - раствор калия перманганата)**

|  |
| --- |
| Rf = 0.63 Rf - 0.48 Rf = 0.60  Rf = 0.41 Rf = 0.42  Rf = 0.27  x x x x x  3 - 6 14 - 19 20 - 25 26 - 35 36 - 48 |

Хроматографический анализ позволяет заключить, что в полученном извлечении находится 6 веществ, проявляющихся калия перманганатом.

**Выводы**

В ходе работы были выполнены все поставленные задачи:

1) Определены товароведческие показатели листьев лопуха войлочного;

2) Получены жидкие экстракты из листьев лопуха войлочного на 25, 40, 70 % этаноле и проведена их стандартизация;

3) Проведены исследования противовоспалительных свойств;

4) Проведено выделение сесквитерпеновых лактонов.

##### Приложение. Таблицы по противовоспалительной активности

##### Таблица 6

**Средний диаметр раневого повреждения у мышей, получавших извлечения из лопуха войлочного в сравнении с контрольной группой. мм (M±m)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа живот. | Число живот. | СУТКИ НАБЛЮДЕНИЯ | | | | | | | |
| 1 | 2 | 5 | 8 | 13 | 15 | 17 | 19 |
| Контроль | 8 | 12.9 ± 0.5 | 11.8 ± 0.4 | 10.1 ± 0.4 | 7.8 ± 0.5 | 2.7 ± 0.7 | 1.5 ± 0.4 | 0.9 ± 0.4 | 0.1 ± 0.1 |
| Сух. экстр. корней 70 | 6 | 12.8 ± 0.6 | 11.0 ± 0.4 | 10.8 ± 0.5 | 8.2 ± 0.3 | 2.0 ± 0.6 | 0.7 ± 0.5 | 0.8 ± 0.6 | 0 |
| Сух. экстр. корней 40 | 6 | 13.0 ± 0.3 | 11.5 ± 1.1 | 10.3 ± 0.6 | 8.1 ± 0.4 | 2.1 ± 0.9 | 0.9 ± 0.3 | 1.7 ± 0.6 | 0 |
| Сух. экстр. корней 25 | 5 | 12.8 ± 0.6 | 10.9 ± 0.8 | 8.3 ± 0.7\* | 5.6 ± 0.5\* | 1.1 ± 0.5 | 0.6 ± 0.2 | 0.4 ± 0.2 | 0 |
| Сух. экстр. листьев 70 | 6 | 12.8 ± 0.3 | 12.8 ± 0.7 | 9.6 ± 0.6 | 7.2 ± 0.4 | 1.8 ± 0.6 | 1.4 ± 0.5 | 0.6 ± 0.2 | 0.2 ± 0.2 |
| Сух. экстр. листьев 40 | 6 | 12.8 ± 0.5 | 12.3 ± 1.1 | 10.9 ± 0.8 | 8.1 ± 0.7 | 1.9 ± 0.4 | 1.2 ± 0.4 | 0.6 ± 0.4 | 0 |
| Сух. экстр .листьев 25 | 6 | 12.6±0.3 | 10.6±0.6 | 8.3±0.4\* | 6.3±0.6\* | 0.1±0.1\* | 0\* |  |  |

ПРИМЕЧАНИЕ: \* - различия статистически достоверны в сравнении с контролем при Рu, t < 0.05

Таблица 7

**Влияние сухих экстрактов лопуха войлочного на развитие “ватной” гранулемы у крыс линии Wistar (M±m)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Группа, доза | Число живот. | Вес сухой гранулемы (мг) | Вес экссудата (мг) |
| Контроль | 7 | 49.0 ± 3.5 | 200.0 ± 23.1 |
| Индометацин (8 мг / кг) | 6 | 39.6 ± 3.1 | 127.0 ± 18.1\* |
| Сухой экстракт корней 70 (25 мг / кг) | 6 | 38.7 ± 2.6\* | 148.2 ± 14.7\* |
| Сухой экстракт корней 40 (25 мг / кг) | 5 | 41.8 ± 3.1 | 151.6 ± 18.5 |
| Сухой экстракт корней 25 (25 мг / кг) | 5 | 53.4 ± 3.8 | 215.0 ± 14.4 |
| Сухой экстракт листьев 70 (25 мг / кг) | 5 | 49.4 ± 6.2 | 215.0 ± 54.0 |
| Сухой экстракт листьев 40 (25 мг / кг) | 5 | 50.0 ± 6.0 | 186.2 ± 20.0 |
| Сухой экстракт листьев 25 (25 мг / кг) | 5 | 44.0 ± 2.7 | 170.6 ± 14.0 |

ПРИМЕЧАНИЕ:\* - различия статистически достоверны в cравнении с контролем при Рu,t < 0,05

Таблица 8

**Влияние сухих извлечений из листьев лопуха войлочного на острое каррагениновое воспаление (М±m)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Группа животных | Доза мг / кг | Число живот. | Прирост веса лапки, % |
| Контроль | - | 10 | 60.1 ± 4.4 |
| Сухой экстракт 40 | 100 | 6 | 52.0 ± 5.3 |
|  | 50 | 6 | 37.7 ± 2.5\* |
|  | 10 | 6 | 44.7 ± 7.9\* |
|  | 1 | 6 | 44.5 ± 4.2\* |
| Сухой экстракт 25 | 100 | 6 | 42.7 ± 5.8\* |
|  | 50 | 6 | 51.8 ± 5.5 |
|  | 10 | 6 | 42.8 ± 5.6\* |
|  | 1 | 6 | 52.7 ± 5.8 |
| Сухое водн. извл. | 100 | 6 | 58.2 ± 5.6 |
|  | 50 | 6 | 56.5 ± 6.0 |
|  | 10 | 6 | 55.5 ± 8.1 |
|  | 1 | 6 | 65.2 ± 5.6 |

ПРИМЕЧАНИЕ: \*- различия статистически достоверны в сравнении с контролем при Рu, t < 0.05

##### Список литературы

1. Блинова К. Ф., Яковлева Г. П. Ботанико - фармакологический словарь. - М. : Наука, 1990. - с.207.

2. Государственная фармакопея 11 - е издание. - М. : Медицина, 1987. - вып. 1. - 333 с.

3. Государственная фармакопея 11 - е издание. - М. : Медицина, 1990. - вып. 2. - 395 с.

4. Гриневич М. А. Информационный поиск перспективных лекарственных растений. -Л., 1990. - с.92 - 105.

5. Губергриц А. Я., Сололченко Н. И. Лекарственные растения Донбасса. - Донецк, 1990. - с. 106.

6. Генис Д. Е. Медицинская паразитология. - Медицина, 1979. - с 26.

7. Дыгай А. М., Клименко Н. А. Воспаление и гемопоэз. - Томск, 1992. - с.276.

8. Есипова И. К. Регенерация кожи у млекопитающих животных и человека // очерки по проблеме регенерации, М. : Медицина, 1966. - с. 29 - 55.

9. Ковалева Н. Г. Лечение растениями. - М. : Наука, 1972. - с. 162 - 164.

10. Крылов П. Н. Флора Западной Сибири. - Томск : издательство Томского Государственного университета, 1949. - Вып. 2 . - с. 2874 - 2877.

11. Кузнецова М. А., Резникова А. С. Сказания о лекарственных растениях. - М. : Высшая школа., 1992. - с. 277 - 279.

12. Лагерь А. А. Лечение растениями. Фитотерапия. - Красноярск. : " Алис ", 1992. - с. 66 - 69.

13. Минаева В. Г. Лекарственные растения Сибири. 1991. - 123 с.

14. Новицкая С. Я., Борзунов Е. Е., Сафиулин Р. М. Производство таблеток. - М. : Медицина., - 1969. - 136 с.

15. Пайзиева С. А. О продолжительности жизни некоторых видов Cousinia coss. и Arctium L. // Ботанический журнал. - 1962. - Т 47. - # 10. - с. 1517 - 1521.

16. Пашинский В. Г. и др. Растения в терапии и профилактике болезней. - Томск. : Изд - во Томского университета, 1989. - с. 60 - 64.

17. Попов А. П. Траволечебник Алексея Попова. - Кемерово. : АО Кемеровское кн. изд - во, 19937 - с. 56 - 58.

18. Растительные ресурсы СССР : Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Asteraceae (Compositae). - Спб. : Наука, 1993. - с. 332 - 335.

19. Решетняк В. В., Цигура И. В. Травник. - Харьков : Прапор, 1992. - с. 101.

20. Рыбалко К. С. Природные сесквитерпеновые лактоны. - М. : " Медицина ", 1978. - с. 320.

21. Тринус Ф. П., Клебанов В. К., Ганжа И. М., Сейфулла Р. Д. Фармакологическая регуляция воспаления. - Киев. : Здоровье, 1987. - с. 144.

22. Юзепчук С. В. и Сергиевская Е. В. Флора СССР. - М. : Академия наук СССР. 1962. - Т. 27, - с. 93 - 107.

23. Фенчин К. М. Заживление ран. - Киев. : Здоровье, 1979. - с. 167.

24. Худякова Н. В., Филиппов Г. П., Горленко Л. В., Ковалевская Р. А., Шалыгин В. А. Актуальные вопросы детской гастроэнтерологии// учебное пособие. - Томск. - 1992. - с. 26.

25. Штэпа И. С. О естественных границах между родами Causinia и Arctium на основе полинологических данных. - Л. - 1973. - с. 37 - 39.