

УДК 615:40

Т.В. Корнопольцева, А.А. Гуржапова, Т.А. Асеева, А.Г. Мондодоев

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ НОВОГО СРЕДСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ЕГО ДИУРЕТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ**

ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (Улан-Удэ)

Разработана методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид в полиэкстракте сухом «Флаворен», полученном из корневищ и корней марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), красных листьев бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch) и травы мари остистой (*Teloxys aristata* (L.) Mok.) и установлена его диуретическая эффективность.

**Ключевые слова:** «Профем», флавоноиды, спектрофотометрия, диурез

**STANDARDIZATION OF THE NEW HERBAL REMEDY «FLAVOREN» AND ITS DIURESIS EFFICIENCY**

T.V. Kornopol'tseva, A.A. Gurzhapova, T.A. Aseyeva, A.G. Mondodoyev

Institute of the general and experimental biology SB RAS, Ulan-Ude

The method of quantitative determination of the sum of flavonoids in the novel herbal polyextract «3 red» for standardization was elaborated. This novel herbal remedy of the roots of *Rubia tinctorum* L., red leaves *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch and herb of *Teloxys aristata* (L.) Mok. is composed. Diuresis efficiency was determined.

**Key words:** Flavoren, flavonol glycoside, spectrophotometry, diuresis

Широкая распространенность и наблюдающийся рост патологии органов мочевыделительной системы определяет необходимость совершенствования фармакотерапии заболеваний указанного профиля. Основным требованием к нефропротекторным средствам является отсутствие токсичности и нежелательных побочных явлений при их применении. Этой задаче в полной мере отвечают средства природного происхождения, поскольку они оказывают комплексное влияние на патологический процесс и обладают минимальным побочным действием.

Одним из перспективных направлений разработки новых лекарственных средств представляется перевод тибетских многокомпонентных сборов, имеющих многовековой опыт применения в лечебной практике, в экстракционные препараты. Они представляют собой сумму биологически активных веществ в концентрированном виде и сохраняют все преимущества многокомпонентных лекарственных средств: синергизм в действии ингредиентов, соответствие мультифакторности заболевания, воздействие на организм больного как корригирующей лекарственной системы, отсутствие токсичности и побочных нежелательных эффектов.

При анализе информации тибетских медицинских трактатов и изучении опыта бурятских лам выявлено 10 композиций, наиболее часто назначаемых для лечения органов мочеполовой системы, в частности, при заболеваниях почек. Одной из этих композиций является трехкомпонентный сбор под условным названием «3 красных», который входит в виде блока в состав многокомпонентных прописей, таких как «Прославленный красный», «Красный отвар-11», «Полный сбор граната» и других [3, 11]. В тибетской медицине бурятских

лам в состав этого сбора входят корневища и корни марены красильной, красные листья бадана толстолистного и трава мари остистой. Препараты и извлечения из этих растений в научной и народной медицине используются в качестве спазмолитических и мочегонных средств [6, 7, 10], что указывает на целесообразность применения данной композиции в качестве средства для профилактики и терапии заболеваний почек. В связи с этим, нами разработано новое нефропротекторное средство растительного происхождения в виде суммарного средства из сухих экстрактов; корней и корневищ марены красильной (*Rubia tinctorum* L.), наземной части мари остистой (*Chenopodium aristatum* L.) sin. (*Teloxys aristata* (L.) Mok.), красных листьев бадана (*Bergenia crassifolia* Fritsch.), в соотношении 1:1:1, условно названное «Флаворен».

**Целью настоящей работы** явилась разработка методики стандартизации нефропротекторного экстракта «Флаворен» и определение его диуретической активности.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Растительный материал — корни марены красильной приобретены в аптечной сети (ПФК «Фитофарм», рег. № 70/729/23, серия 010799); красные листья бадана толстолистного и трава мари остистой собраны в конце вегетации в пригороде Улан-Удэ в 2009 г. Сухой полиэкстракт получали методом кратной мацерации с учетом оптимальных параметров экстракции. Наличие основных групп биологически активных веществ определяли общепринятыми методами [3]. Определение потери в массе при высушивании проводили на дериватографе Netzsch STA 449C (Германия). Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре

Agilent-8453E (США) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Метрологическую обработку результатов проводили согласно рекомендациям [8]. Эксперименты выполнены на белых крысах линии Wistar обоего пола массой 180–220 г. С целью оценки функционального состояния почек животных диурез определяли по общепринятому методу без нагрузки и с 2,5 % водной нагрузкой [2]. Оценку интенсивности канальцевой реабсорбции проводили по А. Ванде [4].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методом кратной мацерации с учетом оптимальных параметров экстракции получен сухой полиэкстракт. Оптимизацию процесса экстракции проводили с учетом выхода суммы экстрактивных веществ [5] и суммы флавоноидов [1]. Полиэкстракт представляет собой порошок коричневого цвета с приятным запахом и горьковатым вяжущим вкусом. Гигроскопичен, комкуется, хорошо растворим в воде, в 50% спирте этиловом. Потеря в массе при высушивании не превышает 5 %. На пяти опытных образцах потеря в массе при высушивании варьирует от 3,04 до 4,93 %. Установлено, что основное удаление влаги начинается при температуре 50 °С, а при 150 °С происходит разложение экстракта.

На основании качественного фитохимического анализа в полученном полиэкстракте установлено наличие антраценпроизводных (ализарин), дубильных веществ, фенолкарбоновых кислот (кофейная и хлорогеновая), флавоноидов (рутин, кверцетин, кемпферол, лютеолин, гиперозид, апигенин). Идентификацию проводили с использованием аутентичных образцов. При исследовании спектров поглощения спиртовых извлечений полиэкстракта

«Флаворен» было установлено, что максимумы спектров поглощения спиртовых растворов полиэкстракта близки к таковым ГСО цинарозида (лютеолин-7-глюкозид). При добавлении к раствору полиэкстракта раствора алюминия хлорида I максимум спектра поглощения смещался к 408 нм и был близок к максимуму спектра поглощения стандартного образца цинарозида, снятого в аналогичных условиях (рис. 1).

Методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в полиэкстракте «3 красных».

Около 0,3 г (точная навеска) сухого полиэкстракта растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл в 50 мл 70% спирта этилового и доводят объем раствора до метки тем же растворителем (раствор А). 1 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 1 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят 95% спиртом этиловым до метки (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 405 нм. В качестве раствора сравнения используют следующий раствор: 1 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят 95% спиртом этиловым до метки. Параллельно определяют оптическую плотность раствора стандартного образца цинарозида.

Суммарное содержание флавоноидов (X, %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_{СТ} \cdot k^V \cdot 100 \cdot 100}{D_{СТ} \cdot m \cdot k^V_{СТ} \cdot (100 - W)}$$

где:  $D$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $D_{СТ}$  – оптическая плотность стандартного раствора цинарозида;  $k^V$  – коэффициент разбавле-

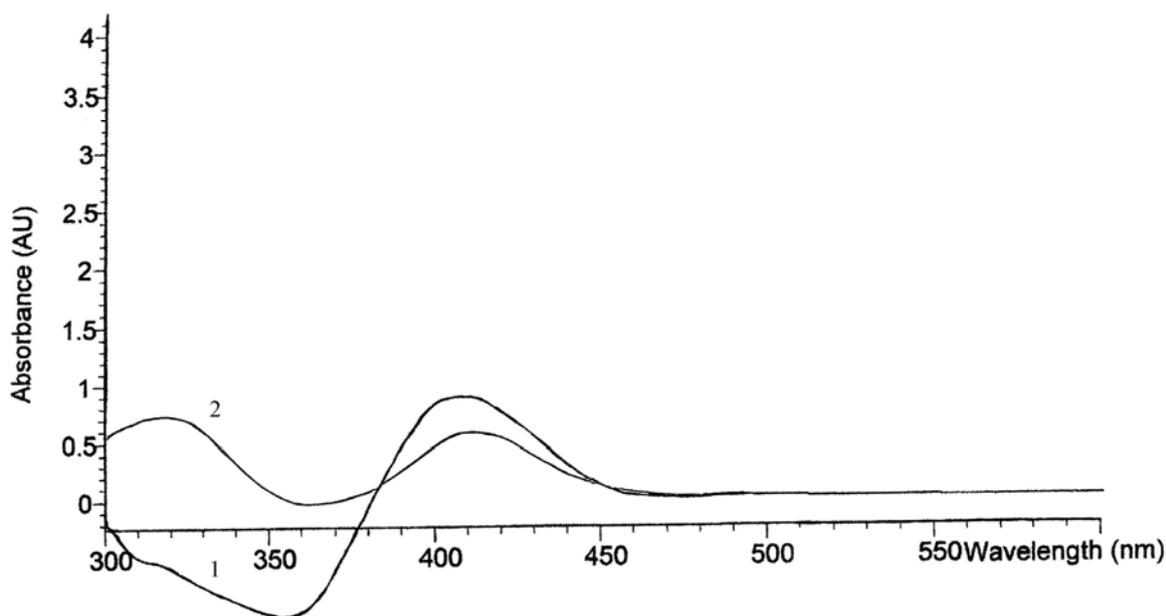


Рис. 1. Дифференциальные спектры поглощения ГСО цинарозида (1) и полиэкстракта сухого «Флаворен» (2) в 95% спирте этиловом.

ния исследуемого раствора (2500);  $k_{CT}^V$  – коэффициент разбавления цинарозида (2500);  $m$  – масса навески сбора (полиэкстракта), г;  $m_{CT}$  – масса навески цинарозида, г;  $W$  – потеря в массе при высушивании сбора (полиэкстракта), %.

Расчет суммарного содержания флавоноидов можно проводить также с использованием величины удельного коэффициента поглощения цинарозида ( $E_{1\%}^{1\text{см}}$  145). Различия значений, рассчитанных двумя способами, не превышают 3 %.

Оценку правильности разработанной методики проводили с использованием общепринятого метода добавок [8]. Относительная ошибка методики при этом не превышала 5 %. Средняя ошибка трех определений для трех образцов находится в пределах 0,92 – 1,67 %, что свидетельствует об удовлетворительной воспроизводимости методики.

Метрологические характеристики методики представлены в таблице 1, относительная ошибка единичного определения не превышает 5 %.

**Таблица 1**  
**Метрологические характеристики определения суммы флавоноидов в полиэкстракте сухом «3 красных» в пересчете на цинарозид**

f	$\bar{x}$	S	P	t	$\Delta x$	$\epsilon$ , %
9	10,7	0,078	95	2,26	0,055	3,27

Суммарное содержание флавоноидов, определенное с использованием разработанной методики в 9 сериях полиэкстракта сухого, составило 9,8 – 10,9 %. Следовательно, суммарное содержание флавоноидов в пересчете на цинарозид в полиэкстракте «3 красных» должно нормироваться – не менее 8 %.

Острая токсичность сухого экстракта определялась на белых беспородных мышьях-самцах с исходной массой  $20,0 \pm 1,0$  г при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введениях растворенного в воде экстракта. Каждую дозу экстракта испытывали на 10 животных. Наблюдение за животными вели в течение 14 дней. Регистрировали наблюдаемые признаки интоксикации, проводили вскрытие и осмотр погибших животных. Результаты исследований показали, что при внутрибрюшинном введении больших доз сухого экстракта «Флаворен» белым мышам наблюдаются признаки интоксикации, выражающиеся в замедлении ориентировочной реакции, резких движениях, появлением тонических, а затем тонико-клонических судорог. Животные погибали при явлениях сердечно-сосудистой недостаточности преимущественно в течение суток от введения экстракта. LD50 по Керберу при внутрибрюшинном введении полиэкстракта «флаворен» 385,5 мг/кг. При внутрижелудочном введении данного средства в максимально возможной дозе, гибели животных не регистрировали, и не наблюдалось явных признаков интоксикации. Эти данные позволяют отнести испытуемый полиэкстракт к группе малотоксичных веществ по классификации Сидорова [9].

При исследовании влияния «Флаворена» на функциональное состояние почек крыс было установлено, что испытуемый фитоэкстракт обладает наиболее выраженной диуретической активностью при его использовании в дозе 20 мг/кг (табл. 2).

**Таблица 2**  
**Влияние «Флаворена» на диуретическую функцию почек крыс**

Группы животных	Доза, мг/кг	Диурез, мкл / 100 г/ч	Увеличение диуреза, %
Контрольная (H <sub>2</sub> O)	–	216,1 ± 12,43	–
Опытная 1 «Флаворен»	20,0	279,4 ± 14,42*	29,3
Опытная 2 (канефрон)	1,5 мл/кг	248,3 ± 21,15	14,9

**Примечание:** \* – здесь и далее, различие значимо по сравнению с данными контрольной группы при  $p \leq 0,05$ .

Как следует из данных, приведенных в таблице 2, на фоне введения фитосредства в дозе 20 мг/кг диурез повышался почти на 30 % по сравнению с данными у крыс контрольной группы. При этом диуретическая активность «Флаворена» в указанной дозе превосходила таковую у препарата сравнения – Канефрона. В дальнейшем эта доза была использована в качестве экспериментально-терапевтической.

Установлено, что увеличение диуреза под влиянием «Флаворена» обусловлено повышением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) на 42,5 % и увеличением выведения ионов натрия с мочой в среднем на 28 % по сравнению с аналогичными показателями крыс контрольной группы, вместе с тем испытуемое средство не оказывает особого влияния на канальцевую реабсорбцию и калийурез (табл. 3).

**Таблица 3**  
**Влияние «Флаворен» на СКФ, натрийдиурез и интенсивность канальцевой реабсорбции у интактных крыс**

Группы животных	Доза, мг/кг	СКФ, мкл/100 г/мин	Na <sup>+</sup> , мг/мл	Интенсивность канальцевой реабсорбции, %
Контрольная (H <sub>2</sub> O)	–	92,3 ± 5,25	0,93 ± 0,04	96,1 ± 6,15
Опытная «Флаворен»	20 мг/кг	131,5 ± 8,81*	1,19 ± 0,05*	96,5 ± 7,38

Таким образом, разработана методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в пересчете на цинарозид в полиэкстракте сухом «Флаворен» и установлена его диуретическая эффективность.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Беликов В.В., Точкова Т.В. Реакция комплексобразования в анализе флавоноидов // Матер. 2 Всесоюз. симп. по фенольным соединениям. – Алма-Ата, 1973. – С. 168 – 172.
2. Берхин Е.Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена – Барнаул, 1972. – 156 с.

3. Большой Агинский чжор (рецептурник). Ксилограф на тибетском языке: Издание Агинского дацана. — XIX в. — 151 л.
4. Вандер А. Физиология почки. — СПб., 2000. — 256 с.
5. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа /МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М., 1987. — 336 с.
6. Дикорастущие полезные растения России / отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. — СПб., 2001. — 663 с.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Т. 1. — М., 1988. — 624 с.
8. Основы аналитической химии. Кн. 1 / под ред. Ю.А. Золотова. — М., 2002. — 494 с.
9. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. — М., 1973. — Вып. 13. — С. 47—51.
10. Федосеева Л.М. Фармакотехнологические исследования листьев бадана толстолистного: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — Пятигорск, 1988. — 20 с.
11. «Чжуд-ши»: Канон тибетской медицины / Перевод с тибетского, предисл., примеч., указатели Д.Б. Дашиева. — М., 2001. — 766 с.

#### Сведения об авторах

**Корнопольцева Татьяна Владимировна** – кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (3012) 43-47-43; e-mail: tv-kornopol@mail.ru)

**Гуржапова Анжелика Анатольевна** – аспирант ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (3012) 43-47-43).

**Асеева Тамара Анатольевна** – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая лабораторией медико-биологических исследований ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, профессор кафедры фармации медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (3012) 43-47-43)

**Мондодоев Александр Гаврилович** – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (3012) 43-47-43)