

УДК 615.322.451.16.2.015.4:616-092.9.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКЦИОННОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И МОЧЕГОННОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗ ТРАВЫ ЗОЛОТАРНИКА КАНАДСКОГО

© 2016 Л.Н. Савченко, Т.Ф. Маринина, В.А. Карпенко

Пятигорский медико-фармацевтический институт-
филиал Волгоградского государственного медицинского университета

Статья поступила в редакцию 22.05.2016

Изучен состав биологически активных веществ травы золотарника канадского. Установлено наличие значительных количеств флавоноидов, что определило противовоспалительное и диуретическое действие водно-спиртовых извлечений. Разработана технологическая схема получения жидкого экстракта из травы золотарника канадского, 1:1, в основе которой лежит экстракция БАВ 70% этиловым спиртом методом реперколяции. Результаты фармакологических исследований показали противовоспалительную и мочегонную активность предлагаемого жидкого экстракта. Предложены методики качественного и количественного анализа флавоноидов в жидком экстракте травы золотарника канадского.

Ключевые слова: *трава золотарника канадского, флавоноиды, жидкий экстракт*

В настоящее время наметилась тенденция все более широкого использования фитопрепаратов, как для лечения, так и для профилактики различных заболеваний. Все возрастающий интерес к растительным лекарственным средствам обусловлен прежде всего тем, что в случае рационального применения фитопрепараты, как правило, сочетают в себе хороший терапевтический эффект и относительную безвредность. Актуальность применения растительных препаратов определяется и тем, что в последнее время получила широкое распространение новая нозологическая форма - «лекарственная болезнь». Следовательно, сегодня весьма актуальным является поиск рациональных путей использования лекарственных растений и лекарственных растительных средств в соответствии с принципами современной фитотерапии.

Спиртовые извлечения (настойки и жидкие экстракты) являются одними из наиболее удобных лекарственных форм, получаемых из растительного сырья. Этим фитопрепаратам присущи такие достоинства, как быстрота и доступность получения на любом галеновом производстве, устойчивость при хранении, кроме того, этиловый спирт извлекает из растительного сырья широчайший спектр биологически активных веществ (БАВ). Трава золотарника канадского широко используется в качестве лекарственного средства. Настой и отвары травы золотарника широко используются в народной медицине при лечении простудных заболеваний, желтухе, болезни почек [2]. Наружно настой корней золотарника канадского в виде примочек употребляют при гнойных ранах, порезах, язвах, переломах костей, в виде полосканий при ангине, заболеваниях полости рта и для укрепления рыхлых дёсен. Золотарник канадский применяют и в научной медицине. Показано наличие гипотензивного и диуретического действия. Препарат «Канафлазин» представляет собой полифенольный комплекс, основными веществами которого являются моногликозиды

кверцетина, кемпферола, изорамнетина. Препарат рекомендуют для лечения острой хронической почечной недостаточности с явлениями гиперазотемии, развивающейся в результате гломерулонефритов, пиелонефритов, амилоидоза, токсических повреждений почек. Таблетки «Марелин» содержат наряду с другими лекарственными веществами, экстракт золотарника сухой. Препарат оказывает спазмолитическое и противовоспалительное действие, способствует отхождению конкрементов, состоящих из кальций оксалатов и кальций фосфатов уменьшает или снимает боли при почечной колике, усиливает диурез. Препарат «Простанорм» разработан ЗАО «ФПК ФармВИЛАР» на базе лекарственных и ароматических растений, представляет комплексный препарат, получаемый из смеси лекарственного растительного сырья: травы зверобоя и золотарника канадского, корней солодки. В состав препарата включены растения, улучшающие микроциркуляторные процессы, нормализующие мочеотделение, оказывающие противовоспалительное, капилляропротекторное, анальгетическое и антимикробное действие. «Простанорм» в настоящее время выпускается в виде жидкого экстракта и в виде таблеток, покрытых оболочкой. Препарат «Простанорм» в виде жидкой лекарственной формы уже более 5-ти лет с успехом применяется для лечения хронического простатита [1].

Цель исследований: получить экстракт золотарника жидкий 1:1 из травы золотарника канадского, изучить его противовоспалительное и мочегонное действие.

В задачи исследования входило изучение фитохимического состава травы золотарника канадского и определение основных групп фармакологически активных веществ; расчет эффективности различных способов экстрагирования на основании экспериментально установленных технологических показателей сырья; способ экстрагирования, обеспечивающий высокую технологическую эффективность; проведение стандартизации экстракта, используя физико-химические методы анализа; проведение фармакологических исследований.

Результаты и их обсуждение. Учитывая, что фармакологическое действие препарата из травы золотарника канадского обусловлено в основном флавоноидами, изучение фитохимического состава травы золотарника канадского было начато именно с этой группы БАВ. В спиртовых извлечениях (1:10) из сырья

Савченко Людмила Николаевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры технологии лекарств. E-mail: fleur12012@yandex.ru

Маринина Тамара Филипповна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры технологии лекарств. E-mail: marininatoma@mail.ru

Карпенко Валентина Анатольевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии. E-mail: f-akademiya@mail.ru

было установлено наличие флавоноидов хроматографически (БХ, ТСХ), спектрофотометрически (рис.1) и по следующим реакциям: - с раствором основного ацетата появлялось желто-оранжевое окрашивание; - с концентрированным раствором аммиака наблюдали оранжевое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжево-красное. Спектрофотометрически, дифференциальным ДЕ – вариантом, проведено количественное определение флавоноидов в траве золотарника канадского и жидком экстракте в пересчете на рутин (табл. 1).

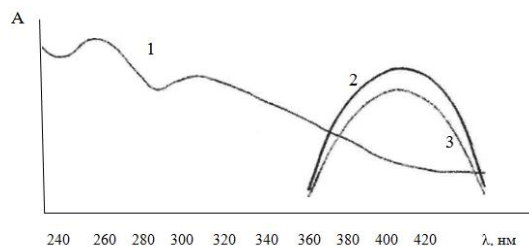


Рис. 1. УФ-спектры поглощения:

1 – спиртовое извлечение из травы золотарника канадского; 2 – дифференциальный спектр комплекса флавоноидов из травы золотарника канадского с алюминия хлоридом; 3 – дифференциальный спектр комплекса рутина с алюминия хлоридом

Таблица 1. Результаты количественного определения суммы флавоноидов в траве и жидком экстракте золотарника канадского

№ п/п	Найдено флавоноидов в сырье, %	Метрологические характеристики	Найдено флавоноидов в жидком экстракте, %	Метрологические характеристики
1	2,21	$\bar{X}_{\text{ср}}=2,3\%$	1,9584	$\bar{X}_{\text{ср}}=1,9585\%$
2	2,32	$S=0,223114$	1,9588	$S=0,114673$
3	2,30	$Sx=0,091086$	1,9585	$Sx=0,05128$
4	2,40	$\Delta x=0,07$	1,9586	$\Delta x=0,09$
5	2,32	$\bar{X} \pm \Delta x = 2,3 \pm 0,07$	1,9584	$\bar{X} \pm \Delta x = 1,9585 \pm 0,09$
6	2,30	$\varepsilon_{\text{отн}} = \pm 3,04\%$	1,9584	$\varepsilon_{\text{отн}} = \pm 4,8\%$

Равновесные способы экстрагирования предусматривают равенство концентрации вещества во всех точках системы. Поэтому расчеты их эффективности основаны на количественном учете жидкой фазы, так как экстрагируемые вещества распределяются на ступенях экстракции пропорционально объемам жидкости, слитой после настаивания и оставшейся с сырьем. После настаивания и слива извлечения с сырьем всегда остается жидкость, содержащаяся в порах частиц, на их поверхности и между ними. Мерой ее объема является коэффициент образования внутреннего сока «К». Коэффициент образования внутреннего сока служит мерой объема внутреннего сока, образовавшегося в единице массы сырья при растворении в поглощенном экстрагенте и экстрактивных веществ. При экстрагировании сырья некоторая часть экстрагента поглощается сырьем. Мерой объема экстрагента, поглощаемого единицей массы сырья, является коэффициент поглощения «К_п». Кроме того, для расчетов при прогнозировании качества жидких экстрактов и настоек необходимо иметь информацию о коэффициенте увеличения объема при растворении экстрактивных веществ «Z». Коэффициент увеличения объема при растворении экстрактивных веществ служит мерой увеличения объема экстрагента при растворении в нем единицы массы экстрактивных веществ. Методика определения K_п, K, Z предусматривает массообмен в системе твердое тело-жидкость [3]. Определение плотности и сухого остатка проводили трижды и рассчитывали среднее значение. По результатам анализа проводили вычисление K, K_п, Z:

$$K = \frac{100 \cdot (f - d) + G \cdot (x + B)}{100 \cdot G \cdot \rho_u}; K_p = \frac{V - a}{G}$$

$$Z = \frac{V_1 \cdot \rho_p + b - c}{b \cdot \rho_p}$$

Также вычисляли содержание экстрактивных веществ в сырье X и содержание спирта в извлечении по массе P_p:

$$X = \frac{b \cdot (G \cdot B + 100 \cdot f)}{G \cdot (c - b)}; P_p = \frac{100 \cdot f \cdot P}{B \cdot G + 100 \cdot f}$$

Таблица 2. Результаты определения товароведческих и технологических показателей травы золотарника канадского

Название	Обозначение	Результат
масса сырья, г	G	10,0
величина влажности, %	B	7,02
содержание экстрактивных веществ в сырье, %	X	20,85
масса экстрагента, взятого для экстракции, г	f	126,3
объем экстрагента, г/см ³	V	142,6
плотность экстрагента, г/см ³	ρ	0,8854
плотность извлечения, г/см ³	ρ _и	0,8942
плотность растворителя, г/см ³	ρ _p	0,8864
концентрация спирта в экстрагенте, %		
по объему	P ₁	70
по массе	P	62,4
концентрация спирта в растворителе в % по массе	P _p	62,09
объем слитого извлечения, см ³	a	99,8
масса полученного извлечения, г	d	89,3
масса извлечения, взятого на анализ, г	c	4,44
объем извлечения, взятого на анализ, см ³	V ₁	4,99
масса сухого остатка, г	b	0,0861
коэффициент поглощения экстрагента сырьем, см ³ /г/г	K _п	4,2
коэффициент образования внутреннего сока, г/см ³	K	4,45
коэффициент увеличения объема при растворении экстрактивных веществ, см ³ /г	Z	1,08

Результаты проведенных расчетов представлены в табл. 2. Полученные результаты позволили приступить к расчетам эффективности различных

равновесных способов экстрагирования и выбрать из них оптимальный для получения жидкого экстракта 1:1. Эффективность способа экстрагирования является важным технологическим показателем и даёт возможность судить о степени совершенства процесса. Теоретически вычисленная эффективность экстракции даёт представление о предельно возможной степени истощения сырья. Теоретический расчёт эффективности различных способов экстрагирования показал, что для мацерации она составила около 63%; дробной мацерации – 78%; реперколяции с завершённым циклом – 89% [4].

В результате проведенных расчетов видно, что эффективность реперколяции с завершённым циклом в батарее из 3-х перколяторов значительно выше и позволяет в батарее из 3-х перколяторов получить выход 89%, что невозможно при использовании других методов экстракции. Поэтому нами был выбран именно этот способ для получения жидкого экстракта золотарника канадского 1:1. Для получения жидкого экстракта из травы золотарника канадского 1:1 методом реперколяции с завершённым циклом в батарее из 3 перколяторов, были проведены следующие расчеты. В качестве экстрагента нами был выбран 70%-ный этанол, который наиболее полно и широко извлекает комплекс флавоноидов и их гликозидов.

Объем экстрагента, предназначенного для ввода в батарею на каждой ступени экстракции, устанавливается с учетом массы сырья в диффузоре G, его поглощаемости K_n и коэффициента съема готовой продукции "y" по формуле:

$$V = G \cdot (K_n + y) = G \cdot (4,2 + 1) = 5,2 G = 52 \text{ мл}$$

Общий расход экстрагента (70%-ный этанол) вычисляют по формуле:

$$W = n G (K_n + y) = 3 G (4,2 + 1) = 15,6 G = 156 \text{ мл},$$

где: W- общий расход экстрагента, см³; n- число диффузоров в батарее (число ступеней экстракции); K_n - коэффициент поглощения экстрагента сырьем, см³/г; y- коэффициент съема готовой продукции, см³/г; G- масса сырья одного диффузора, г.

Объем экстрагента, поглощаемого сырьем на одной ступени, вычисляется по формуле:

$$V = G \cdot K_n = 4,2 \cdot G = 4,2 \cdot 10 = 42 \text{ мл}$$

Общий расход сырья вычисляется по формуле:

$$G_1 = n \cdot G = 3 \cdot G = 3,0 \cdot 10,0 = 30,0$$

Технологический процесс производства жидкого экстракта золотарника канадского описывается нами по дням:

1 день. Загружали все три перколятора, помещая измельченное сырье массой 10,0 г. В перколятор №1 заливали 70% этиловый спирт объемом 52 мл и оставляли на 24 часа для настаивания;

2 день. При открытом кране из перколятора №1 сливали 10 мл извлечения и переносили в перколятор №2. В перколятор №1 заливали свежий экстрагент объемом 52 мл, сливали 42 мл и переносили в перколятор №2 и оставляли на 24 часа.

3 день. Открывали краны перколяторов №1 и №2 и сливали по 10 мл извлечения. Извлечение второго перколятора переносили в перколятор №3, а извлечение из перколятора №1- в перколятор № 2. В перколятор №1 заливали свежий экстрагент объемом 52 мл, сливали

42 мл извлечения и переносили в перколятор № 2. Из перколятора № 2 сливали 42 мл извлечения, переносили в перколятор № 3 и оставляли на 24 часа.

4 день. Открывали краны трех перколяторов и сливали извлечения. Слив перколятора №3 объемом 10 мл является готовым продуктом. Извлечение перколятора №1 10 мл переносили в перколятор №2; извлечение из №2 10 мл переносили в №3 и оставляли на 24 часа. Сырье перколятора № 1 отработано, производят разгрузку перколятора.

5 день. Из перколяторов №2 и №3 сливали по 10 мл извлечения. Извлечение перколятора №3 10 мл - готовый продукт. Извлечение перколятора №2 переносили в перколятор №3 и оставляли на 24 часа. Перколятор №2 разгружали.

6 день. Из перколятора №3 получали последнюю порцию готового продукта 10 мл. Перколятор №3 разгружали. Полученные извлечения объединяли. Полученные извлечения в объеме 30 мл отстаивали при температуре +8°C 7 суток и фильтровали.

Нами было изучено противовоспалительное и диуретическое действие жидкого экстракта золотарника канадского. Противовоспалительное действие экстракта золотарника канадского определяли методом онкометрии. Опыты проводились на беспородных крысах-самцах, массой 130-140 г. Крысам субплантарно (под апоневроз лапки) вводили 0,1 мл 10% суспензии каолина в качестве флоггена. Это вызывало развивающийся во времени отек лапки. Степень отека отражала интенсивность воспаления. Величину отека измеряли по количеству вытесненной из капсулы онкометра воды при погружении в нее лапки. Экспериментальных животных разбивали на 3 группы по 6 в каждой. Первой группе вводили только каолин. Эта группа являлась контрольной. Животным первой группы за 30 мин до введения каолина вводили внутрь бутадиион в дозе 0,6 мг/кг массы (группа сравнения). Дозу бутадииона для животных рассчитывали с учетом терапевтической суточной дозы для человека. Животным третьей группы за 30 мин до моделирования воспаления внутрь через зонд вводили жидкий экстракт золотарника в виде водного раствора в дозе 1 мл/100 г веса. Ориентировочный диапазон активной дозы был выявлен в предварительных экспериментах на ограниченном количестве животных (по 2 особи в группе) с шагом 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг. Плато действия наступало 100 мг/кг массы, поэтому её избрали для изучения. Онкометрическое измерение объема лапки проводили через 4 и 24 часа после введения в лапку каолина (табл.3).

Таблица 3. Влияние жидкого экстракта золотарника канадского на развитие воспалительного отека лапки крыс

Применение препарата	Исходный объем лап	Объем лап через 4 часа	Объем лап через 24 часа
контроль	0,98±0,01	1,85±0,09	2,04±0,01
бутадиион	0,93±0,06	1,47±0,06*	1,28±0,09*
жидкий экстракт золотарника	0,96±0,07	1,52±0,06*	1,36±0,10*

Примечание: * - достоверные измерения по отношению к контролю

Результаты исследования показали, что жидкий экстракт золотарника канадского к 4-му часу опыта достоверно уменьшает отек на 18% в сравнении с величиной отека у животных контрольной группы. По

отношению к действию бутадиона эффект жидкого экстракта золотарника недостоверно ниже (на 3,4%). Через 48 часов наблюдения величина отека на фоне жидкого экстракта золотарника была на 33,4% меньше, чем у контрольных крыс, но выше, чем при применении бутадиона. Таким образом, в опытах на крысах установлено, что жидкий экстракт золотарника канадского оказывает противоотечное действие, а, следовательно, и противовоспалительное. В сравнительном аспекте этот эффект сопоставим с действием эталонного препарата - бутадиона.

Изучение мочегонного действия жидкого экстракта золотарника канадского. Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах массой 150-160 г. Жидкий экстракт золотарника вводили животным

внутрижелудочно через зонд в виде водного раствора в дозе 10 мл/кг веса. В качестве препарата сравнения использовали фуросемид в дозе 1 мг/кг массы животного. Животные были разделены на 3 группы по 6 в каждой. Контрольная группа получала в качестве водной нагрузки физиологический раствор в дозе 25 мл/кг. Группа сравнения получала также физиологический раствор, содержащий фуросемид в дозе 1 мг/кг. Опытные крысы получали физиологический раствор в том же объеме, содержащий водный раствор жидкого экстракта золотарника канадского. Непосредственно после введения веществ и водной нагрузки крыс помещали в специальные камеры с мочеприёмником. Мочу собирали на протяжении 5 часов от введения веществ и её объём измеряли каждый час (табл. 4).

Таблица 4. Результаты изучения диуретического действия жидкого экстракта золотарника.

Применение препарата	Объём мочи, мл.					
	1 час	2 час	3 час	4 час	5 час	Всего
контроль	0,6±0,05	0,8±0,03	0,3±0,02	0,5±0,04	0,4±0,03	2,6±0,04
фуросемид	1,8±0,33*	1,6±0,12*	1,5±0,23*	1,2±0,22*	0,9±0,14*	7,0±0,23
жидкий экстракт золотарника 10 мг/кг	1,0±0,06**	1,1±0,08**	1,2±0,12*	1,1±0,10*	0,7±0,09*	5,1±0,24

Примечание: * - изменения достоверны по отношению к контролю; * - изменения достоверны по отношению к фуросемиду

Результаты опыта показали, что жидкий экстракт золотарника канадского обладает диуретической активностью. Причем данный эффект у него мягче, т.е. менее выражен, чем при использовании фуросемида. Общий объём через 5 часов наблюдений на фоне экстракта составил 5,1±0,24, что на 27% меньше, чем при введении фуросемида. В сравнении с контрольной группой общий объём мочи был на 49% больше, что свидетельствует о выраженности действия на процесс мочеобразования. Наблюдения показали, что жидкий экстракт золотарника оказывает действие через 1 час после введения и действует равномерно в течение 4-х часов. Таким образом, жидкий экстракт золотарника канадского в опытах на крысах оказывает выраженное диуретическое действие.

Выводы: изучен фитохимический состав травы золотарника канадского, установлено наличие основных групп фармакологически активных веществ: флавоноидов около 2,3%. Определены технологические показатели качества сырья, которые позволили рассчитать теоретическую эффективность различных способов экстрагирования. Установлено, что оптимальным способом экстрагирования для получения жидкого

экстракта 1:1 является метод реперколяции с завершённым циклом в батарее из трех перколяторов. Жидкий экстракт из травы золотарника канадского, полученный по предложенной технологической схеме, отвечает требованиям НД на данный вид продукции. Разработаны методики стандартизации жидкого экстракта по содержанию суммы флавоноидов. Изучена противовоспалительная и мочегонная активность полученного жидкого экстракта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Воскобойник, И.В. Применение простанорма в урологической практике / И.В. Воскобойник, В.К. Колхир // Актуальные проблемы создания новых лекарственных средств. – Фитофарм. Миккели, Финляндия. – СПб., 2004. С. 70-75.
2. Зимин, А.В. Библиотека лекарственных растений. – СПб.: АО «Довраль», 1993. Т. 1. С. 72.
3. Пиуков, Ю.Г. Метод прогнозирования качества жидких экстрактов при их производстве способом реперколяции / Ю.Г. Пиуков, И.А. Муравьев // Фармация. 1988. № 3. С. 19-20.
4. Пиуков, Ю.Г. Инженерные методы расчета промышленных способов экстрагирования. – Пятигорск, 1994. 30 с.

RECEIVING THE EXTRACTION PREPARATION WITH ANTI-INFLAMMATORY AND DIURETIC EFFECTS FROM SOLIDAGO CANADENSIS HERBS

© 2016 L.N. Savchenko, T.F. Marinina, V.A. Karpenko
Piatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University

The composition of biologically active substances in *Solidago canadensis* herbs is studied. The presence of significant amounts of flavonoids, which determined the anti-inflammatory and diuretic effect of hydro-alcoholic extracts. The technological scheme of liquid extract of *Solidago canadensis* herbs, 1: 1, which is based on the extraction of bioactive substances from 70% ethanol reprecipitation method. Pharmacological studies have shown the anti-inflammatory and diuretic activity in proposed liquid extract. The methods of qualitative and quantitative analysis of flavonoids in the liquid extract herb *Solidago canadensis* are proposed.

Key words: herb *Solidago canadensis*, flavonoids, liquid extract

Lyudmila Savchenko, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Drugs Technology Department. E-mail: fleur-12012@yandex.ru; Tamara Marinina, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Drugs Technology Department. E-mail: marininatoma@mail.ru; Valentina Karpenko, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Pharmaceutical and Toxicological Chemistry Department. E-mail: f-akademiya@mail.ru