

Одержання, стандартизація та вивчення фармакологічної активності рідкого екстракту з трави чумизи

З.І.Омельченко, В.С.Кисличенко, В.В.Вельма

Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук
Харків, Україна

Об'єктом дослідження було обрано рідкий екстракт з трави чумизи. Проводили його ідентифікацію за якісними реакціями та визначали кількісний вміст біологічно активних речовин, визначаючи таким чином параметри стандартизації рідкого екстракту для розробки аналітичної нормативної документації. Також було вивчено гостру токсичність, діуретичну та протизапальну активність рідкого екстракту з трави чумизи.

Ключові слова: рідкий екстракт, трава чумизи, полісахариди, речовини, що окислювались, гостра токсичність, діуретична та протизапальна активність.

ВСТУП

Чумиза, або італійське просо (*Setaria italica* L.), відноситься до родини Злакові (Poaceae). Рослина широко культивується в Європі, Азії, Африці, Америці. Чумиза включена до Фармакопеї Китаю 2000 р. Серед представників роду є зернокультурні, харчові, кормові, декоративні, лікарські рослини. В Україні виведено та внесено до реєстру рослин України авторський сорт чумизи Дніпровська, який оцінювався за харчовою привабливістю, смаковими якостями, високою врожайністю та широко культивується.

Метою даної роботи було отримання рідкого екстракту з трави чумизи, визначення параметрів його стандартизації та вивчення фармакологічної активності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження було обрано рідкий екстракт з трави чумизи.

З метою встановлення оптимальних умов отримання рідкого екстракту з трави чумизи

нами були визначені технологічні параметри сировини. Враховуючи визначені технологічні параметри, нами було отримано рідкий екстракт з трави чумизи методом мацерації.

З метою стандартизації рідкого екстракту з трави чумизи визначали ряд числових показників у 5 серіях екстракту, отриманих в умовах лабораторії, проводили його ідентифікацію за якісними реакціями та визначали кількісний вміст біологічно активних речовин.

Ідентифікація. 1 г рідкого екстракту розчиняли в 10 мл води очищеної. До 1 мл отриманого розчину додавали декілька крапель розчину заліза (III) хлориду. Утворювалося чорно-зелене забарвлення, яке свідчило про наявність фенольних речовин.

1 г рідкого екстракту розчиняли у 10 мл води очищеної. До отриманого розчину додавали трикратну кількість 96% етанолу. Утворювався аморфний осад (полісахариди).

Відносна густина. Визначення проводили за методикою, наведеною в ДФУ 1-е видання п.2.2.5 [3, 4].

Вміст етанолу. Визначення проводили за методикою, наведеною в ДФУ 1-е доповнення п.2.9.10 [3, 4].

Сухий залишок. Визначення проводили за методикою, наведеною в ДФУ 1-е видання, стаття «Екстракти» [3, 4].

Важкі метали. Визначення проводили за методикою, наведеною в ДФУ п.2.4.8 [3, 4].

Мікробіологічна чистота. Випробування проводили відповідно до вимог ДФУ п.2.6.12, 2.6.13 та статті «Екстракти» [3, 4].

Основними діючими речовинами, що обумовлюють протизапальну і діуретичну дії, є фенольні сполуки, а саме гідроксикоричні кислоти і дубильні речовини та полісахариди. Тому й ефективність екстракції оцінювали за виходом цих сполук.

Визначення вмісту суми поліфенолів, що окислювались [2]. Близько 0,5 г (точна наваж-

ка) рідкого екстракту трави чумизи вміщували в мірну колбу місткістю 200 мл і розчиняли у воді. Потім відбирали піпеткою 25 мл розчину в конічну колбу місткістю 750 мл, додавали 500 мл води, 25 мл розчину індігосульфокислоти і титрували при постійному перемішуванні розчином калію перманганату (0,02 моль/л) до золотисто-жовтого забарвлення.

Паралельно проводили контрольний дослід. 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) відповідає 0,004157 г дубильних речовин в перерахунку на танін.

Вміст суми окислених поліфенолів (X, %) розраховували за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 25}, \text{ де}$$

V — об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), який пішов на титрування розчину, мл;

V₁ — об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), який пішов на титрування в контрольному досліді, мл;

0,004157 — кількість дубильних речовин, яка відповідає 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) (у перерахунку на танін), г;

m — маса сумарного екстракту, г;

25 — об'єм екстракту, який було взято для титрування, мл.

Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот. Близько 0,5 г (точна наважка) рідкого екстракту трави чумизи вміщували в мірну колбу місткістю 200 мл, розчиняли у воді і доводили об'єм розчину водою до позначки (розчин А). В мірну колбу місткістю 50 мл вносили 3 мл розчину А і доводили розчин до позначки 20% етанолом. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі Spescord при довжині хвилі 327 нм. Розчином порівняння був 20% етанол.

Вміст суми гідроксикоричних кислот (X, %) у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X = (A \cdot 200 \cdot 50 \cdot 100) / (E^{1\%}_{1\text{ см}} \cdot m \cdot 3), \text{ де}$$

A — оптична густина розчину, що досліджувався;

m — маса рідкого екстракту, г;

E^{1%}_{1 см} — питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531.

Визначення вмісту полісахаридів. Близько 25 г (точна наважка) рідкого екстракту трави чумизи вміщували в колбу місткістю 200 мл, додавали 90 мл 96% спирту етилового, перемішували, підігрівали на водяному огрівнику до 40°C протягом 1 год. і центрифугували зі швидкістю обертання 5000 об./хв. Осад кількісно переносили на фільтр, який попередньо був

висушений до постійної маси, і послідовно промивали розчинами спирту та ацетону. Фільтр з осадом спочатку сушили на повітрі, а потім при температурі 100-105°C до постійної маси.

Вміст полісахаридів (X, %) обчислювали за формулою:

$$X = ((m_2 - m_1) \cdot 100) / m, \text{ де}$$

m₂ — маса фільтру з осадом, г;

m₁ — маса фільтру, г;

m — маса рідкого екстракту, г.

Вивчення фармакологічної активності рідкого екстракту з трави чумизи проводили в ЦНДЛ Національного фармацевтичного університету під керівництвом доктора медичних наук Л.В.Деримедвідь. Однією з найголовніших характеристик субстанцій, які пропонуються в якості перспективних для створення лікарських препаратів, є, поряд з їх високою фармакологічною активністю, безпечність. Тому в першу чергу було вивчено гостру токсичність рідкого екстракту з трави чумизи [5, 8].

Дослідження гострої токсичності рідкого екстракту трави чумизи проводили за методом Т.В.Пастушенко [9]. Експеримент проводився на 32 білих нелінійних мишах вагою 19-20 г. Екстракт вводили одноразово перорально через зонд в об'ємі 0,1-1 мл. Препарат порівняння — нефрофіт. Нагляд за тваринами проводили протягом 14 діб.

Сучасна медицина має у своєму арсеналі значну кількість діуретичних засобів. Проте їх застосування нерідко супроводжується проявом побічних ефектів (метаболічний алкалоз, гіпокаліємія, гіполіпідемія та ін.). Тому важливою проблемою сучасної експериментальної фармакології є створення нових, більш ефективних та менш токсичних лікарських препаратів, що мають діуретичну дію. Цим вимогам відповідають рослинні діуретики [6, 7].

Дослідження впливу рідкого екстракту з трави чумизи на функцію нирок вивчали в досліді на нелінійних білих щурах-самцях масою 150-175 г за методом Є.Б.Берхіна [1].

Діуретичну дію екстракту з трави чумизи вивчали за його впливом на спонтанний діурез у дослідних тварин [1, 5]. Досліди проводили на нелінійних білих щурах-самцях масою 150-175 г. Тварин було поділено на три групи, одна з яких одержувала екстракт з трави чумизи, друга — препарат порівняння нефрофіт, третя — контрольна група. Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково за допомогою спеціального зонду. Через 30 хв. щурам внутрішньошлунково вводили відстояну протягом 24 год. водопровідну воду з розрахунку 3 мл на 100 г маси тіла тварини. Кількість сечі визначали через кожну годину впродовж 4 годин.

Дослідження впливу введення екстракту з трави чумизи на добове споживання води, спонтанний діурез, екскрецію креатиніну та електролітів проводили на нелінійних білих щурах-самцях масою 200-205 г. Тварини знаходилися в індивідуальних обмінних клітках, пристосованих до вимірювання кількості випитої води і виділеної сечі. Кількість електролітів у сечі визначали методом полум'яної фотометрії.

Вивчення протизапальної активності рідкого екстракту з трави чумизи проводили на моделі гострого ексудативного запалення у нелінійних щурів-самців масою 180-220 г, індукованого субплантарним введенням 1% розчину карагеніну. Вибір цієї моделі запалення обумовлений тим, що в розвитку ексудативної стадії запалення беруть участь різні медіатори запалення: біогенні аміни, кінінова система, гістамін, серотонін, простагландини та ін. Тому вивчення ефективності препаратів протягом 4 год. досліді дозволило визначити найбільш оптимальні засоби для лікування запальних процесів різного генезу. Екстракт з трави чумизи та нефрофіт вводили перорально за 1 год. до індукції запалення карагеніном (профілактичний режим). Величину набряку в кожному випадку визначали за різницею об'ємів між здоровою лапою та лапою з набряком, які вимірювали на механічному онкометрі. Протизапальну активність препаратів оцінювали за здатністю зменшувати розвиток набряку, в порівнянні з контролем. Її виражали у %, які вказували наскільки препарати пригнічують розвиток набряку стосовно контролю, де величину набряку приймають за 100%. Активність досліджуваного екстракту та препарату порівняння розраховували за формулою:

$$A = 100\% - ((M_o - M_3) \times 100) / (M_{ок} - M_3^к),$$

де A — антиексудативна активність, %;

M_o — об'єм лапи з набряком у досліді;

M₃ — об'єм здорової лапи в досліді;

Мок — об'єм лапи з набряком у контролі;

M_{3к} — об'єм здорової лапи в контролі.

Вимір набряку лапи у щурів проводили через 1, 2, 3 та 4 год., зважаючи на те, що після введення карагеніну максимум набряку спостерігається до третьої години, потім набряк поступово зменшується протягом доби. У якості препарату порівняння використовували нефрофіт, що вводився в аналогічному режимі.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати визначення технологічних параметрів трави чумизи наведено в табл. 1.

ТАБЛИЦЯ 1

Результати визначення технологічних параметрів трави чумизи

Технологічні параметри	Значення
Подрібненість, мм	3-5
Питома маса, г/см ³	1,39
Об'ємна маса, г/см ³	0,54
Насипна маса, г/см ³	0,25
Пористість	0,58
Порізність	0,54
Вільний об'єм шару	0,82
Коефіцієнт поглинання екстрагенту, мл/г	4,4

Опис. Екстракт з трави чумизи — густа рідина темно-коричневого кольору, слабо-гіркуватого смаку, зі специфічним запахом чумизи.

Визначено параметри стандартизації рідкого екстракту з трави чумизи. Ідентифікацію проводили за наявністю фенольних сполук та полісахаридів. Відносна густина має бути не менше ніж 1,11 г/см³. Вміст етанолу має бути не більше 0,5%. Сухий залишок має бути не менше ніж 24,0%. Вміст важких металів повинен бути не більше ніж 0,001%.

В 1 г препарату виявили наявність не більше 500 бактерій і 40 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі).

Бактерій роду *Escherichia coli* і *Salmonella* не виявлено. У 10 г препарату відсутні бактерії роду *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*.

Вміст суми окислених поліфенолів має бути не менше ніж 6,5%. Вміст суми гідроксикоричних кислот має бути не менше ніж 1,8%. Вміст полісахаридів має бути не менше ніж 11,5%.

Результати дослідження гострої токсичності рідкого екстракту з трави чумизи наведені в табл. 2. Встановлено, що введення рідкого екстракту з трави чумизи дослідним тваринам в дозі 1 мл не призводить до загибелі тварин.

Таким чином, визначити LD₅₀ рідкого екстракту з трави чумизи не вдалося. Дана доза, згідно з перерахунком на сухі активні речови-

ТАБЛИЦЯ 2

Результати дослідження гострої токсичності рідкого екстракту з трави чумизи

№ з/п	Доза екстракту з трави чумизи, мл	Кількість тварин, які вижили, %
1	0,1	100
2	0,2	100
3	0,3	100
4	0,4	100
5	0,5	100
6	0,6	100
7	0,7	100
8	0,8	100
9	0,9	100
10	1,0	100
Нефрофіт		
1	1,0	100

ТАБЛИЦЯ 3

Вивчення діуретичної активності рідкого екстракту ($M \pm m$, $n=7$)

Препарати	Дозамлг	Діуретична дія			
		через 2 год.		через 4 год.	
		Об'єм, мл	у % до контролю	Об'єм, мл	у % до контролю
Контроль	–	1,34 \pm 0,09	100	2,52 \pm 0,18	100
Екстракт з трави чумизи	0,05	1,69 \pm 0,11	126,1	3,84 \pm 0,13	152,4
	0,1	2,38 \pm 0,19*	177,6	5,24 \pm 0,26*	207,6
Нефрофіт	0,1	2,28 \pm 0,19*	170,1	4,63 \pm 0,22*	183,7

Примітки: * — достовірність результатів по відношенню до контрольної групи ($p < 0,05$).

ни, відповідає дозі, яка більша за 10000 мг/кг за К.К.Сидоровим, що дозволяє віднести цю субстанцію до практично нетоксичних сполук [8]. Це дало нам змогу продовжити вивчення біологічної активності екстракту.

Результати вивчення діуретичної активності рідкого екстракту представлені в табл. 3.

За даними табл. 3 екстракт з трави чумизи в дозах 0,05 та 0,1 мл/100 г маси збільшував сечовиділення за 2 год. на 26,1-77,6%, а за 4 год. — на 52,4-107,6%. Препарат порівняння нефрофіт в експерименті збільшував діурез на 70,1% за 2 год. і на 83,7% за 4 год. відповідно. Аналіз результатів дослідження свідчить, що в даному експерименті за діуретичною дією екстракт з трави чумизи перевищує препарат порівняння нефрофіт.

Результати дослідження впливу рідкого екстракту з трави чумизи на споживання води, спонтанний діурез, екскрецію креатиніну та електролітів (натрію, калію) у щурів представлені в табл. 4.

Як видно з даних табл. 4, вплив рідкого екстракту з трави чумизи на спонтанний діурез показав, що при однократному введенні підвищується кількість добового споживання води на 15,3%, підсилюється клубочкова фільтрація на 17,2%, збільшується екскреція натрію на 43,8%, калію — на 5,2%. Нефрофіт при однократному введенні підвищував кількість добового споживання води на 8,9%, збільшував клубочкову фільтрацію на 5,9%. Під дією не-

фрофіту збільшувалася екскреція іонів натрію на 25,9%, калію — на 18,2%.

Аналіз отриманих результатів показує, що рідкий екстракт з трави чумизи в дослідах зі спонтанним діурезом перевищував дію нефрофіту в 1,73 разу. Вочевидь, отримані результати обумовлені тим, що флавоноїди покращують клубочкову фільтрацію, а гідроксикоричні кислоти сприяють активації АТФ-аз, які беруть участь у реабсорбції.

Результати дослідження протизапальної активності представлені в табл. 5.

У результаті експериментів встановлено, що до 1 год. досліду в порівнянні з вихідним тілом набряк у групі нелікованих тварин збільшився в 1,5 рази. Через добу мала місце тенденція до зменшення набряку, однак величина лап у щурів не досягла норми та в порівнянні з вихідним фоном була вище на 26%. У результаті проведеного досліду встановлено, що всі досліджувані фітопрепарати виявляли протизапальну активність. При цьому в реалізації їх антифлогістичного ефекту брали участь різні фактори. Так, при застосуванні екстракту з трави чумизи максимум активності приходився на 2 та 3 год. досліду, що свідчило про вплив на систему гістаміну та серотоніну. Впливаючи на дані медіатори, екстракт з трави чумизи зменшував їх лабілізуєчий вплив на мембрани та в результаті цього зменшував утворення протизапальних простагландинів. Нефрофіт хоча і виявляв схожу сечогін-

ТАБЛИЦЯ 4

Вплив рідкого екстракту з трави чумизи та нефрофіту на споживання води, спонтанний діурез, екскрецію креатиніну та електролітів у щурів ($M \pm m$, $n=7$)

Показники	Контроль	Рідкий екстракт з трави чумизи	Нефрофіт
Випито води, мл	18,9 \pm 1,18	21,8 \pm 1,12*	20,6 \pm 0,96*
у % до контролю	100	115,3	108,9
Виділено сечі, мл	3,94 \pm 0,27	12,9 \pm 1,12*	7,44 \pm 0,94*
у % до контролю	100	327,4	188,8
Екскреція креатиніну, мг	2,68 \pm 0,21	3,14 \pm 0,19*	2,84 \pm 0,28
у % до контролю	100	117,2	105,9
Екскреція натрію, мкмоль	96,4 \pm 1,2	138,6 \pm 0,84*	121,4 \pm 0,7*
у % до контролю	100	143,8	125,9
Екскреція калію, мкмоль	27,8 \pm 0,2	28,3 \pm 0,41	35,9 \pm 0,87*
у % до контролю	100	105,2	118,2

Примітка: * — достовірність результатів у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦЯ 5

Вплив рідкого екстракту з трави чумизи та нефрофіту на процес ексудації при карагеніновому запаленні у щурів ($M \pm m$, $n=7$)

Досліджуваний препарат	% пригнічення набряку в порівнянні з нелікованим контролем протягом...			
	1 год.	2 год.	3 год.	4 год.
Екстракт з трави чумизи, 0,1 мл	35,1 \pm 1,4	40,3 \pm 1,9	42,2 \pm 1,2	39,1 \pm 1,2
Екстракт з трави чумизи, 0,2 мл	36,4 \pm 1,3	44,3 \pm 2,0	43,4 \pm 2,2	40,1 \pm 1,1
Нефрофіт, 0,2 мл	25,8 \pm 1,2	27,0 \pm 1,2	29,1 \pm 1,3	30,2 \pm 1,2

ну та протизапальну активність, що й екстракт з трави чумизи, але поступався за антифлогістичним ефектом у середньому в 1,4-1,5 рази.

Таким чином, досліди показали наявність у рідкого екстракту з трави чумизи протизапальної активності, що робить доцільним його подальше фармакологічне дослідження.

ВИСНОВКИ

Уперше визначено технологічні параметри трави чумизи. Запропоновано спосіб отримання рідкого екстракту з трави чумизи, який захищено патентом України на корисну модель. Визначено параметри стандартизації рідкого екстракту з трави чумизи. Проведено визначення гострої токсичності, діуретичної та протизапальної активності рідкого екстракту з трави чумизи. Рідкий екстракт з трави чумизи віднесено до практично нетоксичних речовин, він виявляє виражену протизапальну та діуретичну активність. За результатами проведених досліджень розроблено проект АНД на «Рідкий екстракт з трави чумизи».

ЛІТЕРАТУРА

- Берхин Е.Б. Методы изучения влияния новых химических соединений на функцию почек / Е.Б.Берхин // Хим.-фармац. журн. — 1977. — Т.11, №5. — С.3-11.
- Государственная Фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. член-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Видавничий дім «Авіценна», 2001. — 528 с.
- Мамчур Ф.И. Фитотерапия в комплексном лечении половых расстройств у мужчин / Ф.И.Мамчур, Ю.В.Кушнир. — К.: Здоров'я, 1992. — 144 с.
- Омельченко З.І. Фармакологічне дослідження водних екстрактів з трави та плодів чумизи / З.І.Омельченко,

В.С.Кисличенко, Л.В.Деримедвідь / Матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 15-16 листоп. 2007 р. — Харків, 2007. — С.157.

- Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К.К.Сидоров // Токсикология новых промышленных химических веществ. — М., 1973. — Вып.13. — С.47-57.
- Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / Т.В.Пастушенко, Л.Б.Маруший, А.А.Жуков, Ю.А.Пилипенко // Гигиена и санитария. — 1985. — №6. — С.46-48.

З.І.Омельченко, В.С.Кисличенко, В.В.Вельма. *Получение, стандартизация и изучение фармакологической активности жидкого экстракта из травы чумизи. Харьков, Украина.*

Ключевые слова: жидкий экстракт, трава чумизи, полисахариды, окисляемые вещества, острая токсичность, диуретическая и противовоспалительная активность.

Объектом исследования был выбран жидкий экстракт, полученный из травы чумизи. Проводили его идентификацию по качественным реакциям и определяли количественное содержание биологически активных веществ, изучая, таким образом, параметры стандартизации жидкого экстракта с целью разработки аналитической нормативной документации. Также была исследована острая токсичность, диуретическая и противовоспалительная активность жидкого экстракта, полученного из травы чумизи.

Z.I.Omelchenko, V.S.Kislichenko, V.V.Velma. *Getting standardization and study of pharmacological activity of Setaria italica's herb. Kharkiv, Ukraine.*

Key words: fluid extract, Setaria italica's herb, polysaccharides, tannins, any toxicity, diuretic and anti-inflammatory activity.

The object of the study was Setaria italica's herb fluid extract. Identification was carried out with qualitative reactions and quantitative content of biological active substances such as it was got the parameters of standardization of the fluid extract with the purpose of creation analytical documents. Any toxicity, diuretic and anti-inflammatory activity of Setaria italica's herb fluid extract were studied.

Надійшла до редакції 28.06.2009 р.