

© Коллектив авторов, 2016

В. А. Куркин, Е. Н. Зайцева, Т. К. Рязанова, А. В. Дубищев

## ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ПЛОДОВ И ПОБЕГОВ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ НА ВЫДЕЛИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК

Самарский государственный медицинский университет, Россия, Самара; e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Проведено исследование диуретической и салуретической активности водных и водно-спиртовых извлечений из плодов и побегов черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) на лабораторных животных. Результаты исследования показывают, что умеренным диуретическим и салуретическим действием обладают водные извлечения из побегов и препараты на основе свежих плодов черники. Под влиянием водно-спиртовых извлечений из воздушно-сухих плодов и побегов черники происходит уменьшение диуреза и салуреза по сравнению с контрольной группой.

**Ключевые слова:** черника обыкновенная; *Vaccinium myrtillus* L.; лекарственные препараты; плоды; побеги; флавоноиды; дубильные вещества; диуретическая активность; салуретическая активность.

Поиск биологически активных соединений, нетоксичных или малотоксичных для организма человека, по-прежнему остается одной из наиболее важных проблем здравоохранения. Актуальным является поиск лекарственных веществ, стимулирующих экскреторную функцию почек, в связи с наличием у применяемых в настоящее время диуретиков ряда серьезных нежелательных побочных эффектов (гипокалиемия, метаболический ацидоз, гипокальциемия и др.) [1]. Перспективным источником для поиска диуретиков являются вещества растительного происхождения, в частности флавоноиды, благодаря своей мягкости воздействия на организм и возможности применения для лечения хронических заболеваний почек и мочевыводящих путей.

В этом отношении нас заинтересовали побеги и плоды черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L., семейство Вересковые — *Ericaceae*), содержащие флавоноиды (антоцианы) и являющиеся фармакопейными видами сырья [2, 3]. Широко известны препараты на основе плодов черники, применяемые при различных заболеваниях глаз [2]. Однако опубликованных научных данных по изучению диуретического действия препаратов на основе сырья черники на экскреторную функцию почек на данный момент не обнаружено.

В связи с этим целью настоящего исследования являлось изучение диуретических и салуретических свойств водных и водно-спиртовых извлечений из плодов и побегов черники обыкновенной.

### Экспериментальная часть

Объектами исследования служили водные извлечения из плодов и побегов: сок свежих плодов черники, стабилизированный этиловым спиртом, и настой побегов черники 1:10. Кроме того, исследовали вод-

но-спиртовые извлечения из плодов и побегов: экстракт жидкий из плодов свежих 1:1 (70 % этиловый спирт), экстракт жидкий из плодов воздушно-сухих 1:1 (70 % этиловый спирт), экстракты жидкие из побегов черники обыкновенной (1:1) на 70 и 40 % этиловом спирте. Содержание дубильных веществ определяли по фармакопейной методике (перманганатометрический метод) [3], флавоноидов — методом дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом при аналитической длине волны 420 нм в пересчете на рутин [4]; антоцианов — методом прямой спектрофотометрии при аналитической длине волны 546 нм в пересчете на цианидин-3-глюкозид [5].

Изучение диуретической активности проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой 180–220 г. Животные содержались в виварии на обычном рационе при свободном доступе к воде. За день до опыта крысы получали внутривентрикулярно водную нагрузку в объеме 3 % от массы тела [6]. В день эксперимента животным контрольной группы при анализе водных извлечений вводили аналогичную по объему водную нагрузку, при анализе водно-спиртовых извлечений — водно-спиртовую нагрузку, соответствующую по содержанию спирта анализируемым образцам и разведенную аналогичным образом; опытным группам при помощи внутривентрикулярного зонда вводили лекарственный препарат в эквивалентном объеме. Водные извлечения вводили в дозах 50 и 100 мг готового препарата на 1 кг массы лабораторных животных (что соответствует 50 и 100 мкл препарата на 1 кг массы животных соответственно), водно-спиртовые извлечения — в дозе 50 мг/кг (50 мкл/кг). Всего было поставлено 20 серий экспериментов — 10 опытных и 10 контрольных (по 10 животных в каждой серии).

Изменение показателей диуреза у крыс под влиянием водных и водно-спиртовых извлечений из плодов и побегов черники обыкновенной

Образец	Доза, мг/кг	Контроль через 4 ч	Диурез через 4 ч		Контроль через 24 ч	Диурез, через 24 ч	
		( $M \pm m$ ), мл	( $M \pm m$ ), мл	в % к контролю	( $M \pm m$ ), мл	( $M \pm m$ ), мл	в % к контролю
Сок плодов	50	0,72 ± 0,05	1,06 ± 0,09**	149**	1,34 ± 0,11	1,47 ± 0,10	110
Сок плодов	100	0,80 ± 0,06	1,48 ± 0,15**	185**	1,25 ± 0,10	1,41 ± 0,11	113
Экстракт из свежих плодов	50	1,50 ± 0,10	1,88 ± 0,13*	125*	2,37 ± 0,10	3,33 ± 0,22**	141**
Отвар воздушно-сухих плодов	50	1,01 ± 0,04	1,06 ± 0,05	105	1,81 ± 0,10	1,85 ± 0,13	102
Отвар воздушно-сухих плодов	100	1,06 ± 0,05	0,99 ± 0,04	83	1,93 ± 0,09	1,52 ± 0,15*	79*
Экстракт из воздушно-сухих плодов	50	1,39 ± 0,12	0,71 ± 0,11**	51**	2,15 ± 0,20	1,29 ± 0,20**	60**
Настой побегов	50	0,74 ± 0,05	0,90 ± 0,04*	122*	1,20 ± 0,09	1,31 ± 0,11	109
Настой побегов	100	0,74 ± 0,05	0,59 ± 0,08	80	1,20 ± 0,09	1,12 ± 0,08	93
Экстракт из побегов (70 % спирт этиловый)	50	1,41 ± 0,21	0,72 ± 0,06**	62**	2,40 ± 0,27	1,44 ± 0,14**	59**
Экстракт из побегов (40 % спирт этиловый)	50	0,99 ± 0,07	0,66 ± 0,08*	67*	1,83 ± 0,12	1,35 ± 0,20	74
Гипотиазид	20				2,73 ± 0,17	3,83 ± 0,22**	140**

\*  $p < 0,05$ .\*\*  $p < 0,01$ .

Животных помещали в обменные клетки на 24 ч. По истечении 4 и 24 ч собранную мочу анализировали и подвергали исследованию [7]. Определяли экскрецию воды, регистрировали концентрацию натрия и калия методом пламенной фотометрии на ПАЖ-1, креатинина — колориметрическим методом на КФК-3. Статистическую обработку полученных результатов экспериментов проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики при помощи

программ Microsoft Excel 2000 “Пакет анализа”, Biostat 1999 по критерию Манна — Уитни.

#### Результаты и их обсуждение

Анализ полученных результатов показал, что достоверно увеличивают выделительную функцию почек по сравнению с контрольной группой сок из свежих плодов в дозах 50 и 100 мг/кг (на 49 и 85 % соответственно за 4 ч), экстракт из свежих плодов черники (на 25 %

Изменение показателей натрийуреза у крыс под влиянием водных и водно-спиртовых извлечений из плодов и побегов черники обыкновенной

Образец	Доза, мг/кг	Контроль через 4 ч	Натрийурез через 4 ч		Контроль через 24 ч	Натрийурез через 24 ч	
		( $M \pm m$ ), мкМ	( $M \pm m$ ), мкМ	в % к контролю	( $M \pm m$ ), мкМ	( $M \pm m$ ), мкМ	в % к контролю
Сок плодов	50	89,24 ± 10,74	156,97 ± 21,47*	176*	306,81 ± 31,86	267,31 ± 41,08	87
Сок плодов	100	101,48 ± 19,96	173,36 ± 25,05*	171*	277,80 ± 29,88	296,35 ± 46,03	107
Экстракт из свежих плодов	50	125,73 ± 20,70	196,05 ± 18,89*	156*	367,67 ± 38,51	634,14 ± 48,82**	175**
Отвар воздушно-сухих плодов	50	102,26 ± 7,01	115,53 ± 14,18	113	304,12 ± 21,46	367,90 ± 28,19	121
Отвар воздушно-сухих плодов	100	111,94 ± 11,25	87,38 ± 9,12	78	352,36 ± 36,70	320,68 ± 26,77	91
Экстракт из воздушно-сухих плодов	50	116,22 ± 17,70	82,34 ± 7,71	71	376,54 ± 52,23	197,80 ± 39,09*	53*
Настой из побегов	50	102,36 ± 11,06	144,87 ± 14,80*	142*	327,80 ± 25,78	364,86 ± 38,44	111
Настой из побегов	100	102,36 ± 11,06	67,12 ± 9,49*	76*	327,80 ± 25,78	232,91 ± 25,78*	71*
Экстракт из побегов (70 % спирт этиловый)	50	111,98 ± 8,76	77,11 ± 7,08**	79**	401,52 ± 45,90	256,27 ± 27,77*	64*
Экстракт из побегов (40 % спирт этиловый)	50	96,77 ± 9,47	45,06 ± 6,53**	47**	320,47 ± 43,70	209,62 ± 32,78	65
Гипотиазид	20				462,88 ± 52,16	711,31 ± 19,26**	154**

\*  $p < 0,05$ .\*\*  $p < 0,01$ .

## Изменение показателей калийуреза у крыс под влиянием водных и водно-спиртовых извлечений из плодов и побегов черники обыкновенной

Образец	Доза, мг/кг	Калийурез через 4 ч			Калийурез через 24 ч		
		( $M \pm m$ ), мкМ	( $M \pm m$ ), мкМ	в % к контролю	( $M \pm m$ ), мкМ	( $M \pm m$ ), мкМ	в % к контролю
Сок плодов	50	38,69 ± 6,11	55,63 ± 4,99*	144*	143,74 ± 16,68	147,33 ± 16,34	102
Сок плодов	100	54,67 ± 6,64	82,20 ± 7,49*	150*	95,04 ± 18,79	127,65 ± 16,70	134
Экстракт из свежих плодов	50	60,74 ± 11,85	87,29 ± 11,41	144	166,98 ± 19,83	264,38 ± 31,67*	158*
Отвар	50	50,74 ± 4,53	54,76 ± 4,61	108	145,60 ± 8,41	155,84 ± 12,66	107
Отвар	100	53,14 ± 3,73	53,68 ± 3,70	101	144,11 ± 16,10	136,93 ± 17,48	95
Экстракт из воздушно-сухих плодов	50	123,17 ± 16,39	87,50 ± 17,83	71	155,76 ± 10,85	107,05 ± 12,04**	69**
Настой побегов	50	39,72 ± 4,40	52,93 ± 5,73	130	121,15 ± 15,14	122,26 ± 13,54	101
Настой побегов	100	39,72 ± 4,40	35,46 ± 6,51	76	121,15 ± 15,14	108,70 ± 9,94	89
Экстракт из побегов (70 % спирт этиловый)	50	54,79 ± 10,57	64,79 ± 7,06	118	176,28 ± 15,02	124,00 ± 10,11**	70**
Экстракт из побегов (40 % спирт этиловый)	50	45,87 ± 7,41	36,67 ± 4,85	80	138,20 ± 19,65	137,73 ± 34,51	100
Гипотиазид	20				155,86 ± 20,70	241,60 ± 19,26**	155**

\*  $p < 0,05$ .  
\*\*  $p < 0,01$ .

за 4 ч и на 41 % за 1 сут) и настоек побегов черники (на 22 % за 4 ч) (табл. 1). Диуретический эффект водных извлечений наблюдался через 4 ч после их применения и достоверно не отличался от контрольной группы через 24 ч с момента их введения, в то время как диуретический эффект экстракта из свежих плодов черники постепенно возрастал. Повышение дозы сока плодов с 50 до 100 мг/кг приводило к увеличению диуретического эффекта, для настоя из побегов наблюдалась обратная тенденция. Экстракты из воздушно-сухих плодов и из побегов черники обыкновенной в исследо-

вании показали антидиуретическую активность (табл. 1).

По показателям диуретической активности, натрийуреза, калийуреза и креатининуреза через 24 ч действие экстракта из свежих плодов черники обыкновенной было сравнимо с действием гипотиазид (табл. 1 – 4). Данные по гипотиазиду через 4 ч не приводятся, так как эти показатели статистически не отличались от значений водного контроля.

Аналогично изменялся салурез и креатининурез при введении вышеуказанных препаратов (табл. 2 – 4).

## Изменение показателей креатининуреза у крыс под влиянием водных и водно-спиртовых извлечений из плодов и побегов черники обыкновенной

Образец	Доза, мг/кг	Креатининурез через 4 ч			Креатининурез через 24 ч		
		( $M \pm m$ ), мг	( $M \pm m$ ), мг	в % к контролю	( $M \pm m$ ), мг	( $M \pm m$ ), мг	в % к контролю
Сок плодов	50	0,90 ± 0,13	1,23 ± 0,09*	137*	2,40 ± 0,39	2,93 ± 0,31	122
Сок плодов	100	0,94 ± 0,07	1,40 ± 0,12	149	2,71 ± 0,30	2,41 ± 0,30	89
Экстракт из свежих плодов	50	1,11 ± 0,11	1,84 ± 0,08**	166**	3,38 ± 0,27	5,89 ± 0,48**	174**
Отвар	50	1,22 ± 0,09	1,16 ± 0,04	95	2,92 ± 0,23	3,21 ± 0,35	110
Отвар	100	1,37 ± 0,11	1,22 ± 0,12	89	3,04 ± 0,27	2,52 ± 0,28	83
Экстракт из воздушно-сухих плодов	50	1,00 ± 0,13	0,91 ± 0,13	91	2,87 ± 0,38	2,49 ± 0,38	85
Настой побегов	50	1,27 ± 0,12	1,69 ± 0,15*	133*	3,00 ± 0,28	3,72 ± 0,41	124
Настой побегов	100	1,27 ± 0,12	1,09 ± 0,21	86	3,00 ± 0,28	2,66 ± 0,34	89
Экстракт из побегов (70 % спирт этиловый)	50	1,16 ± 0,16	0,70 ± 0,13*	60*	3,09 ± 0,41	2,49 ± 0,32	81
Экстракт из побегов (40 % спирт этиловый)	50	1,21 ± 0,13	1,02 ± 0,18	84	2,80 ± 0,28	2,70 ± 0,56	96
Гипотиазид	20				5,27 ± 0,55	6,85 ± 0,59	130

\*  $p < 0,05$ .  
\*\*  $p < 0,01$ .

## Зависимость диуретического эффекта препаратов от содержания дубильных веществ в сырье

Препарат	Доза, мг/кг	Диурез, в % к контролю		Содержание в сырье, %	
		через 4 ч	через 24 ч	дубильных веществ	суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) или антоцианов (в пересчете на цианидин-3-глюкозид)
Сок плодов	50	149**	110	0,12 ± 0,01 (в исходном соке)	1,5 ± 0,1 (в исходном соке, в пересчете на цианидин-3-глюкозид)
Сок плодов	100	185**	113	0,12 ± 0,01 (в исходном соке)	1,5 ± 0,1 (в исходном соке, в пересчете на цианидин-3-глюкозид)
Экстракт из свежих плодов 1:1	50	125*	141**	4,61 ± 0,20 (70 % спирт)	27,41 ± 0,5 (70 % спирт, в пересчете на цианидин-3-глюкозид)
Отвар из воздушно-сухих плодов (1:10)	50	105	102	2,81 ± 0,15 (вода)	2,83 ± 0,18 (вода, в пересчете на цианидин-3-глюкозид)
Отвар из воздушно-сухих плодов (1:10)	100	83*	79*	2,81 ± 0,15% (вода)	2,83 ± 0,18 (вода, в пересчете на цианидин-3-глюкозид)
Экстракт из воздушно-сухих плодов 1:1	50	51**	60**	6,76 ± 0,20 (70 % спирт)	1,66 ± 0,15 (70 % спирт, в пересчете на цианидин-3-глюкозид)
Настой побегов (1:10)	50	122*	109	6,65 ± 0,18 % (вода)	0,56 ± 0,02 (вода, в пересчете на рутин)
Настой побегов (1:10)	100	80	93	6,65 ± 0,18 (вода)	0,56 ± 0,02 % (вода, в пересчете на рутин)
Экстракт из побегов (70 % спирт этиловый, 1:1)	50	62**	59**	9,00 ± 0,19 (70 % спирт)	0,73 ± 0,03 (70 % спирт, в пересчете на рутин)
Экстракт из побегов (40 % спирт этиловый, 1:1)	50	67*	74	8,97 ± 0,15 (40 % спирт)	0,63 ± 0,02 (40 % спирт, в пересчете на рутин)

\*  $p < 0,05$ .\*\*  $p < 0,01$ .

Препараты из свежих плодов (сок, экстракт) повышали почечную экскрецию натрия, калия и креатинина. Для сока плодов в дозе 50 мг/кг и экстракта из свежих плодов отмечалось выраженное натрийуретическое и калийуретическое действие (что свидетельствует о понижении канальцевой реабсорбции), а также возрастание выделения почками креатинина (что свидетельствует о повышении клубочковой фильтрации).

Настой из побегов черники в дозе 50 мг/кг также достоверно увеличивал показатели калийуреза, натрийуреза и креатининуриза за 4 ч. Настой из побегов в дозе 100 мг/кг и экстракты из побегов на 40 и 70 % этиловом спирте достоверно приводят к снижению количества в выделяемой моче натрия. Показатели калийуреза и креатининуриза для этих препаратов изменялись недостоверно.

В связи с тем, что растительное сырье содержит значительное разнообразие биологически активных соединений, интерес представляет выявление групп действующих веществ, ответственных за тот или иной фармакологический эффект.

Известно, что основными группами действующих соединений плодов черники обыкновенной являются антоцианы (подгруппа флавоноидов) и дубильные вещества конденсированной группы, в побегах — флавоноиды и также дубильные вещества конденсированной группы [8]. Каждая из этих групп может вносить свой вклад в диуретический или антидиуретический эффект исследуемых препаратов. В нашем исследовании показано антидиуретическое действие препаратов с высоким содержанием дубильных веществ. Подоб-

ное действие дубильных веществ может быть обусловлено их взаимодействием со слизистой оболочкой пищеварительного тракта и с пищеварительными ферментами, уменьшающими всасывание других биологически активных соединений (флавоноидов, антоцианов) [9]. Снижение эффекта может быть также обусловлено копигментацией дубильных веществ с антоцианами [10].

В ходе настоящего исследования нами была отмечена обратная зависимость между диуретической активностью и содержанием дубильных веществ, определяемых по фармакопейной методике (метод Левентала в модификации А. Л. Курсанова, перманганатометрический метод) (табл. 5) [3]. За исключением сока, определение в исходном сырье содержания суммы флавоноидов (в пересчете на рутин), антоцианов (в пересчете на цианидин-3-глюкозид), а также дубильных веществ осуществляли с использованием растворителей (вода, 40 % этиловый спирт, 70 % этиловый спирт), которые применяли для получения соответствующих препаратов.

Как видно из табл. 5, антидиуретический эффект проявляли препараты с высоким содержанием дубильных веществ. Несмотря на значительное количество дубильных веществ, извлекаемых из побегов водой (6,65 ± 0,18) %, диуретическую активность настоя из побегов в дозе 50 мг/кг можно объяснить их низким содержанием в готовом извлечении (в 10 или более раз меньше, чем указано в табл. 5), в связи с чем возможно проявление диуретического эффекта других групп действующих веществ. Увеличение дозы настоя до

100 мг/кг приводит к увеличению вводимого количества дубильных веществ, чем может быть обусловлено снижение диуретической активности. Подобное действие дубильных веществ может быть объяснено их взаимодействием со слизистой оболочкой пищеварительного тракта и с пищеварительными ферментами, уменьшающими всасывание других биологически активных соединений (флавоноидов, антоцианов).

Таким образом, в ходе исследования проанализировано влияние препаратов из плодов и побегов черники на выделительную функцию почек у крыс. Водные извлечения из плодов в дозе 50 и 100 мг/кг и побегов в дозе 50 мг/кг, а также экстракт из свежих плодов черники оказывают умеренное диуретическое и салуретическое действие (сравнимое с действием гипотиазида), в то время как водно-спиртовые извлечения из воздушно-сухих плодов и побегов черники проявляют антидиуретическое действие. На наш взгляд, стимулирующее действие на экскреторную функцию почек оказывают биологически активные вещества флавоноидной природы, содержащиеся во всех исследуемых препаратах в значительных количествах. Наряду с этим можно предположить, что дубильные вещества, присутствующие в высоких концентрациях в некоторых экспериментальных препаратах, замедляют процесс всасывания флавоноидов, снижают их биодоступность и, как следствие, диуретическую и салуретическую активность. Полученные данные позволяют

рекомендовать при разработке растительных диуретических препаратов на основе сырья черники обыкновенной определенные параметры содержания в них суммы флавоноидов и дубильных веществ, что создает предпосылки для оптимизации диуретических доз лекарственных субстанций.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Клиническая фармакология*, В. Г. Кукес (ред.), ГЭОТАР, Москва (2009).
2. *Государственный реестр лекарственных средств*, Официальное издание по состоянию на 1 апреля 2009 г. в 2 т., т. 1, "Медицинский совет", Москва (2009).
3. *Государственная фармакопея СССР*, Вып. 2, Общие методы анализа, Лекарственное растительное сырье, МЗ СССР, 11-е изд., Медицина, Москва (1990).
4. В. А. Куркин, Т. К. Рязанова. *Хим.-фарм. журн.*, **47**(4), 34 – 37 (2013); *Pharm. Chem. J.*, **47**(4), 213 – 216 (2013).
5. В. А. Куркин, Т. К. Рязанова, *Фармация*, № 2, 10 – 13 (2012).
6. Е. Б. Берхин, *Фармакология почек и ее фармакологические основы*, Медицина, Москва (1979).
7. Е. Н. Зайцева, *Способ получения диуреза у лабораторных животных*, Патент России № 2494703 (2013), *Бюл. изобрет.*, № 28 (2013).
8. В. А. Куркин, *Фармакогнозия*, Самара (2007), сс. 903 – 906.
9. P. Frutos, G. Hervás, F. J. Giráldez and A. R. Mantecón, *Spanish J. Agricult. Res.*, **2**(2), 191 – 202 (2004).
10. Roger Boulton, *Am. J. Enol. Vitic.*, **52**(2), 67 – 87 (2001).

Поступила 20.05.14

## DIURETIC ACTIVITY OF EXPERIMENTAL PREPARATIONS OF BILBERRY FRUITS AND SHOOTS

V. A. Kurkin\*, E. N. Zaitseva, T. K. Ryazanova, A. V. Dubishchev

Samara State Medical University, Samara, 443099 Russia;

\* e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

We have studied the diuretic and saluretic action of aqueous and water – alcohol extracts of fruits and shoots of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) on laboratory animals. The results showed that aqueous extracts of bilberry shoots and preparations of fresh bilberry fruits produce moderate diuretic and saluretic effects. Diuretic effect of the extract of fresh blueberry fruits is comparable with that of hydrochlorothiazide. There was an inverse relationship between the content of tannins and diuretic effect of preparations. The water – alcohol extracts of air-dried fruits and shoots of bilberry led to a decrease in diuresis and saluresis as compared to the control group.

**Keywords:** bilberry; *Vaccinium myrtillus* L.; phytopreparations; fruits; shoots; flavonoids; tannins; diuretic activity; saluretic activity.