

АНТИГИПЕРГЛИКЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО ЦВЕТКОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ХРАНЕНИЯ

Д. В. Моисеев

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Поступила в редакцию 25.03.2016 г.

Аннотация. В статье приведены данные о влиянии условий хранения (герметичная и негерметичная упаковка, влажность сырья и температура) на параметры качества и эффективности (антигипергликемическая активность) для девясила высокого цветков. Наиболее выраженная антигипергликемическая активность наблюдалась у экстракта, полученного из цветков девясила с более высоким содержанием агликонов флавоноидов (сырье с влажностью 25% и хранившееся при комнатной температуре в течение трех лет). Экстракты, полученные как из свежесобранного и переработанного сырья, так и из сырья, хранившегося в различных условиях, также достоверно снижали уровень глюкозы у крыс по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: девясил высокий; ВЭЖХ; фенольные соединения; кверцетин, кофейная кислота, ускоренные испытания.

Abstract. Influence of conditions of storage (in hermetic, and in not hermetic packing, humidity of the herbal substances and temperature) on quality parameters and efficiency (antihyperglycemic activity) for *Inula helenium* flos are described. The most express antihyperglycemic activity was observed at an extract received from *Inula helenium* flos with higher maintenance sum the aglycones flavonoids (herbal substances with humidity of 25 % and stored at a room temperature within three years). The extracts received both from freshen and processing of herbal substances, and from herbal substances, at storage in various conditions, also authentically reduced level of glucose at rats in comparison with control group.

Keywords: *Inula helenium*; HPLC; phenolic compounds; quercetin; HPLC; caffeic acid; accelerated tests.

Нарушение углеводного обмена, вызванного абсолютной или относительной нехваткой инсулина, обуславливает механизм развития сахарной болезни — сахарного диабета. В настоящее время количество людей с данным диагнозом составляет 415 миллионов (2015 г.), к 2040 г. прогнозируется увеличение их количества до 642 миллионов человек. При этом число больных с диагнозом «сахарный диабет второго типа» составляет около 90% [1].

Новым видом лекарственного растительного сырья (ЛРС) с доказанной антигипергликемической активностью являются цветки девясила высокого. Для водных извлечений из девясила высокого цветков в дозах 500-1000 мг/кг Ж.М. Дергачевой и соавт. *in vivo* была доказана фарма-

кологическая активность на модели аллоксан-индуцированного сахарного диабета у крыс и на модели пероральной сахарной нагрузки у интактных крыс [2]. Данный вид растительного сырья внесен в Государственную фармакопею Республики Беларусь. Стандартизация сырья проводится методом ВЭЖХ по содержанию суммы фенольных соединений в пересчете на кверцетин [3].

Известно, что в течение срока годности лекарственные средства, в том числе и растительного происхождения, должны отвечать требованиям регистрационного досье по параметрам эффективности, безопасности и качества. При оценке качества растительного сырья по количественному содержанию биологически активных веществ (БАВ) в фармакопейных статьях обычно указывается только нижняя граница содержания («содержится не менее ...»), а не «коридор» допустимых

значений, как для большинства синтетических фармацевтических субстанций. Поэтому содержание БАВ, а, следовательно, и фармакологическая активность для разных серий одного и того же наименования растительного сырья может различаться. Поэтому для увеличения сроков годности ЛРС первостепенную важность приобретает упаковка, в максимальной степени обеспечивающая сохранность БАВ в растительном сырье при хранении.

Методология проведения ускоренных испытаний и результаты оценки деструкции активных веществ в фармацевтических субстанциях растительного происхождения, в частности для левзеи сафлоровидной листьев и лабазника вязолистного цветков, были подробно рассмотрены в наших публикациях [4, 5], а методология исследований лекарственных средств на основе растительного сырья представлены в работах З.А. Темердашева и Н. Khalid [6, 7].

Целью настоящего исследования являлся сравнительный анализ количественного содержания БАВ и антигипергликемической активности спиртовых экстрактов БАВ из цветков девясила высокого, хранившихся при различных условиях.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Экстракцию фенольных соединений из девясила высокого цветков проводили 60% этиловым спиртом при нагревании на водяной бане. Определение фенольных соединений проводили методом ВЭЖХ по методике Государственной фармакопеи РБ [3]. Исследования проводили на жидкостном хроматографе фирмы Agilent HP 1100 с диодно-матричным детектором. Использовали стандартные образцы кверцетина и хлорогеновой кислоты («Sigma-Aldrich»).

Сравнительное исследование фармакологической активности цветков девясила высокого до и после хранения проводили на модели пероральной сахарной нагрузки у интактных крыс [2]. Исследования проводили на 70 беспородных белых крысах (самцы и самки по 35 голов), массой 250-300 г. Животных подразделяли на семь групп по 10 животных (контрольная группа получала воду очищенную, группа получала препарат сравнения – глибенкламид, пять остальных групп получали экстракты из цветков девясила). За 1 час до введения глюкозы опытным животным интрагастально вводили экстракт девясила цветков в дозе 1000 мг/кг. Для приготовления экстрактов использовали образцы цветков девя-

сила высокого, заготовленные в 2011 (хранились в течение трех лет в негерметичной упаковке и в герметичной упаковке (влажность сырья 25%) при 20°C) и 2014 годах (хранились в течение 68 суток в негерметичной упаковке и в герметичной упаковке (влажность сырья 25%) при 60°C, а также свежепереработанное сырье хранилось до эксперимента при 20°C в течение 68 суток). Экстракцию БАВ из цветков проводили в соотношении 1 часть сырья к 10 частям экстрагента таким же образом, как и для количественного определения. Полученный экстракт охлаждали, профильтровывали и упаривали под вакуумом. Сухой остаток взвешивали и растворяли в объеме воды очищенной при помощи ультразвука в дозе 1000 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовался глибенкламид в дозе 10 мг/кг. Раствор глюкозы (500 г/л) вводили интрагастально в дозе 3 г/кг. Уровень глюкозы в крови из хвостовой вены через определенные промежутки времени, используя портативный экспресс-измеритель концентрации глюкозы в крови «Fine test Auto-coding Premium» (диапазон концентраций глюкозы 0.6-33.3 ммоль/л).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На первом этапе оценивали изменение качественного (рис. 1) и количественного состава фенольных соединений в цветках девясила высокого до и после хранения (табл. 1).

Из представленной таблицы 1 видно, что при длительном хранении при 20°C в негерметичной упаковке за три года происходит снижение концентрации суммы фенольных кислот на 9%, суммы агликонов флавоноидов на 60%; при влажности сырья 25% сумма фенольных кислот снижается на 28%, агликонов флавоноидов увеличивается на 14%. Увеличение содержания агликонов флавоноидов можно объяснить ферментативным гидролизом гликозидов флавоноидов до агликонов. При краткосрочном хранении (68 суток) при 60°C происходило снижение содержания фенольных кислот на 24%, суммы агликонов флавоноидов на 27% в негерметичной упаковке; при влажности сырья 25% сумма фенольных кислот снижается на 73%, сумма агликонов флавоноидов на 55%.

При исследовании сахароснижающей активности экстрактов из цветков девясила, хранившихся при различных условиях, оказалось, что максимальное содержание глюкозы в крови крыс наблюдается через 30 минут после перорального приема и колеблется в пределах от 5.9 (после вве-



Рис.1. Хроматограммы экстракта девясила высокого цветков свежепереработанного (вверху) и после хранения при температуре 20°C при влажности сырья 25% в течение трех лет (внизу). Пики веществ: 1 – хлорогеновая кислота; 2, 3, 4 – фенольные кислоты; 5 – кверцетин; 6 – 3-О-метилкверцетин; 7 – кофейная кислота и 8 – фенольная кислота – продукты деструкции при хранении при повышенной влажности.

Таблица 1

Изменение качественного фенольного состава цветков девясила высокого после хранения (n=3; P=0.95)

Условия хранения сырья	Соотношение фенольных кислот, %				Сумма фенольных кислот в сухом сырье в пересчете на хлорогеновую кислоту, мг/г	Соотношение флавоноидов, %		Сумма агликонов флавоноидов в сухом сырье в пересчете на кверцетин, мг/г
	Пик 1	Пик 2	Пик 3	Пик 4		Пик 5	Пик 6	
Свежепереработанное	17.7	35.7	39.4	7.2	18.7	48.0	52.0	14.0
При 20°C, негерметичное, 3 года	20.1	34.5	38.1	7.4	17.0	24.7	75.3	5.6
При 20°C, 25%, 3 года	44.9	32.7	15.9	6.5	13.4	46.4	53.6	15.9
При 60°C, негерметичное, 68 суток	18.6	35.7	39.0	6.7	14,2	45.7	54.3	10.2
При 60°C, 25%, 68 суток	23.4	33.9	23.0	19.7	5.0	55.7	44.3	6.3

Таблица 2

Уровень глюкозы (моль/л) у животных после перорального введения раствора глюкозы

	Самцы				
	0 минут	30 минут	60 минут	90 минут	120 минут
дев свеж	5.2±0.6	7.5±0.7	7.2±0.5	6.9±0.7	6.5±0.2
дев 20 откр	4.8±0.1	8.0±0.4	7.2±0.5	6.6±0.3	6.3±0.2
дев 20 25%	4.6±0.5	6.6±0.5	6.0±0.5	5.9±0.4	5.6±0.5
дев 60 откр	5.8±0.4	8.3±0.7	8.0±0.5	7.6±0.7	6.8±0.2
дев 60 25%	5.5±0.6	8.1±0.3	7.9±0.4	7.5±0.4	7.3±0.4
глибенкламид	4.7±0.6	5.9±0.4	5.5±0.4	4.3±0.4	4.3±0.5
контроль	6.5±0.6	9.0±0.8	7.7±0.3	6.8±0.3	6.6±0.3
	Самки				
	0 минут	30 минут	60 минут	90 минут	120 минут
дев свеж	5.3±0.3	8.4±0.6	7.9±0.4	7.5±0.4	7.3±0.5
дев 20 откр	5.0±0.6	8.4±0.6	6.8±0.3	6.5±0.2	6.3±0.2
дев 20 25%	4.1±0.3	8.7±0.6	6.9±0.5	6.4±0.4	5.8±0.4
дев 60 откр	3.9±0.4	7.6±0.6	6.9±0.4	6.1±0.4	5.6±0.5
дев 60 25%	5.4±0.5	8.1±0.4	8.0±0.6	7.9±0.4	7.6±0.3
глибенкламид	3.9±0.4	6.4±0.7	5.3±0.3	3.8±0.5	3.3±0.4
Контроль	4.7±0.2	9.9±0.5	8.1±0.8	7.4±0.5	7.3±0.5

дения глибенкламида) до 9.9 ммоль/л (контроль). Во всех случаях концентрация глюкозы в крови у самок превосходила концентрацию у самцов.

Наибольшую антигипергликемическую активность проявлял экстракт, полученный из цветков девясила, хранившихся в герметичной упаковке при комнатной температуре с влажностью 25% в течение трех лет. При применении остальных экстрактов максимальный уровень глюкозы через 30 минут составлял в среднем 8.0-8.2 ммоль/л. Исходя из того, что уровень глюкозы в крови крыс более плавно, по сравнению с контрольной группой, можно предположить, что основной механизм действия растительных экстрактов связан с замедлением процесса всасывания глюкозы в желудочно-кишечном тракте. При приеме водного настоя из цветков девясила в дозе 1000 мг/кг у крыс-самцов через 30 минут при аналогичной сахарной нагрузке наблюдаются следующие показатели глюкозы в крови: группа «глибенкламид» – 6.2 ммоль/л; «настой девясила» – 7.4 ммоль/л; контроль – 8.6 ммоль/л [2]. Сравнивая эти данные с полученными нами, можно отметить, что для самцов и водный настой и раствор сухого остатка, полученный при экстракции спиртом, для свежеработанных цветков девясила снижают уровень глюкозы примерно на 50% по сравнению с контролем. Экстракт с большим содержанием агликонов флавоноидов имеет большую антигипергликемическую активность: снижает уровень глюкозы до 80% по сравнению с контрольной группой (самцы). Экстракты, полученные из сырья с относительно более низким содержанием агликонов флавоноидов, снижают уровень глюкозы на 30-40% по сравнению с контролем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При длительном хранении при комнатной температуре и высокой влажности происходит гидролиз гликозидов флавоноидов до агликонов, повышение температуры приводит к более глубокой деструкции флавоноидов до фенольных кислот.

Витебский государственный медицинский университет

Моисеев Д. В., заведующий кафедрой стандартизации лекарственных средств

Тел.:(+37529)710-24-38

E-mail: ussr80@yandex.ru

Наиболее выраженная антигипергликемическая активность наблюдалась у экстракта, полученного из цветков девясила с более высоким содержанием агликонов флавоноидов (сырье с влажностью 25% и хранившееся при комнатной температуре в течение трех лет). Все исследованные экстракты оказывали достоверное снижение уровня глюкозы у крыс по сравнению с контрольной группой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. International Diabetes Federation (IDF) Atlath 7th Edition [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.diabetesatlas.org> — дата доступа: 24.03.2016.
2. Дергачева Ж.М. Фармакогностический анализ девясила цветков *Inulae Helenii flores*: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 — Ж.М. Дергачева. — Витебск, 2011. — 169 с.
3. Государственная фармакопея Республики Беларусь : в 3 т. / под общ. ред. А.А. Шерякова. — Т. 3. — Молодечно «Победа», 2009. — 728 с.
4. Моисеев Д.В. Новый метод определения сроков годности лекарственного растительного сырья (листья *Rhaponticum Carthamoides*) на основе стресс-теста «ускоренное старение» / Д.В. Моисеев // Рецепт. — 2012. — №2. — С. 47-54.
5. Моисеев Д.В. Влияние условий хранения на параметры эффективности и качества цветков лабазника вязолистного / Д.В. Моисеев, Г.П. Яковлев // Фармация. — 2015. — №6. — С. 9-13.
6. Темердашев З.А. Оценка стабильности фенольных соединений и флавоноидов в лекарственных растений в процессе их хранения / З.А. Темердашев [и др.] // Химия растительного сырья. — 2011. — №4. — С. 193-198.
7. Khalid H. Accelerated Stability and Chemical Kinetics of Ethanol Extracts of Fruit of *Piper sarmentosum* Using High Performance Liquid Chromatography / H. Khalid [et al.] // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. — 2011. — 10 (3). — P. 403-413.

Vitebsk State Medicinal university
Moiseev D. V., Head of Department of
standardization of medicinal preparation
Ph.:(+37529)710-24-38
E-mail: ussr80@yandex.ru