

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ, ОБЛАДАЮЩЕЙ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ

Р.Р. Файзуллина, Н.В. Кудашкина, А.Р. Ахметьянова

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (г. Уфа)

Phytochemical study of plant compositions with hypoglycemic action

R.R. Faizullina, N.V. Kudashkina, A.R. Akhmetyanova

Bashkir state medical university (Ufa, Russia)

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование качественного и количественного состава биологически активных веществ растительной композиции, обладающей гипогликемическим действием. С использованием методов тонкослойной хроматографии установлено присутствие кверцетина, кофейной кислоты, фруктозы. Спектрофотометрическим методом определено количественное содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин ($0,66 \pm 0,02$ %), фенолкарбоновых кислот в пересчете на кофейную кислоту ($1,39 \pm 0,07$ %), фруктозанов низко- и высокомолекулярных и фруктозы ($2,56 \pm 0,11$ %), фруктозы свободной ($0,10 \pm 0,01$ %) и гравиметрическим методом содержание полисахаридов ($7,80 \pm 0,38$ %).

Полученные результаты могут быть использованы для разработки нормативной документации на растительную композицию, обладающую гипогликемическим действием и препаратов, полученных на ее основе.

Ключевые слова: сахарный диабет, фитотерапия, средства растительного происхождения, стандартизация.

RESUME

A study of qualitative and quantitative composition of biologically active substances of plant composition having hypoglycemic action was done. With the use of thin-layer chromatography we established the presence of quercetin, caffeic acid, fructose. Spectrophotometrically quantified flavonoid content in terms of quercetin ($0,66 \pm 0,02$ %), phenol carbonic acids in terms of caffeic acid ($1,39 \pm 0,07$ %), low and high fructosan and fructose ($2,56 \pm 0,11$ %), free fructose ($0,10 \pm 0,01$ %) and polysaccharides by gravimetric method ($7,80 \pm 0,38$ %).

The results can be used to develop normative documents on plant composition having hypoglycemic action and preparations obtained based on it.

Keywords: diabetes, herbal medicine, botanical products standardization.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, сахарным диабетом страдают 347 миллионов человек во всем мире. Ежегодно от осложнений заболевания погибает 3,4 миллиона человек. Наиболее распространенным является сахарный диабет 2-го типа, связанный с развитием относительной инсулиновой недостаточности и составляющий 90 % всех случаев заболевания [1].

Сахарный диабет второго типа особенно опасен тем, что его симптоматика в большинстве случаев является гораздо менее ярко выраженной, чем таковая диабета 1-го типа, в результате чего заболевание чаще всего диагно-

стируется после развития осложнений на поздних стадиях [2].

В качестве профилактики и на ранних стадиях развития сахарного диабета 2 типа преимущественно применяют диетотерапию и фитотерапевтические средства [1]. На российском фармацевтическом рынке присутствуют такие гипогликемические сборы как «Арфазетин», «Мирфазин», «Сахаронорм», а также противо-диабетические чаи и напитки. В настоящее время является целесообразным расширение ассортимента лекарственных средств растительного происхождения, обладающих гипогликемическим действием.

На кафедре фармакогнозии с курсом бота-

ники и основ фитотерапии ГБОУ ВПО БГМУ предложен растительный сбор, включающий 7 компонентов, которые согласно литературным данным обладают как прямым так и опосредованным гипогликемическим действием.

Эффективность предлагаемой растительной композиции была изучена в эксперименте на крысах со стрептозоцин-индуцированным сахарным диабетом на базе Института органической химии УНЦ РАН (г. Уфа). За течением экспериментального диабета следили по повышению уровня глюкозы и альфа-амилазы в крови, а также физическому состоянию животных (снижению массы тела, увеличению потребления воды и диуреза). Падеж крысят наблюдался во всех группах животных с индуцированным диабетом. К седьмому дню эксперимента в контрольной группе пали все животные, в то время как выживаемость в основной группе составила 58,3 %. К 14-м суткам уровень альфа-амилазы и глюкозы в крови животных основной группы снизился до нормального, что позволяет сделать вывод об эффективности разработанной растительной композиции [3].

Целью данного исследования является фитохимическое изучение растительной композиции, обладающей гипогликемическим действием.

МЕТОДЫ

Образцы лекарственного растительного сырья для фитохимического анализа были собраны в типичных местообитаниях в различных районах Республики Башкортостан (2010 – 2012 гг.). Сырье хранилось в соответствии с требованиями нормативной документации (ОСТ 64-4-143-75 и ГФ СССР XI изд.) при комнатной температуре, в сухом, хорошо вентилируемом помещении, не зараженном амбарными вредителями, без прямого попадания солнечных лучей.

Проведено качественное обнаружение флавоноидов и фенолкарбоновых кислот методом восходящей хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) – на пластинках «Silufol UV-254» (Чехия).

В эксперименте использовались следующие системы растворителей:

- 1) бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:5);
- 2) хлороформ – этанол – вода (26:20,3:3);
- 3) хлороформ – уксусная кислота – вода (10:6,5:1);
- 4) этилацетат – муравьиная кислота – вода (8:1:1);
- 5) этилацетат – муравьиная кислота – вода (10:2,5:3);
- 6) этилацетат – метанол – вода (100:17:13);

7) толуол – этилацетат – вода (4:4:2).

Для проявления хроматограмм использовали 3 % раствор алюминия хлорида.

Вещества детектировали, просматривая хроматограммы в видимом и УФ-свете, до и после проявления. Для этого использовали ртутно-кварцевую лампу со светофильтром при длине волны 365 нм.

Для идентификации использовали доступные аутентичные образцы веществ флавоноидов (рутин, кверцетин), фенолкарбоновых кислот (хлорогеновая, галловая, кофейная).

Обнаружение фруктозы и фруктозозанов методом восходящей тонкослойной хроматографии проводили в системе этилацетат – метанол – вода (100:17:13). В качестве вещества – стандарта использовали фруктозу.

Для проявления пятен хроматограммы обрабатывали из пульверизатора 0,1 % спиртовым раствором резорцина, давали высохнуть, помещали на 5–7 минут над чашкой Петри с концентрированной соляной кислотой, налитой на дно емкости слоем в 3 мм. Рассматривали в видимом свете.

Исследование УФ-спектров извлечений из растительной композиции, обладающей гипогликемическим действием проводили на спектрофотометре марки «Schimadzu 1800» при аналитически значимых интервалах длин волн – 240–270 нм; 310–450 нм.

Спектрофотометрический метод использовали для определения количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин [4], суммы фруктозозанов и фруктозы, в пересчете на инулин [5, 6], фенолкарбоновых кислот, в пересчете на кофейную кислоту [7].

Измерения проводили с помощью спектрофотометра марки «Schimadzu 1800».

Определение суммы полисахаридов проводили по методике, изложенной в статье №20 «Folia Plantaginis majoris. Листья подорожника большого» ГФ XI изд. ч.2 [8].

Статистическую обработку экспериментальных данных ($P = 95\%$) проводили, используя критерий Стьюдента с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки единичного определения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для хроматографического исследования навеску сырья экстрагировали 70 % этанолом в соотношении 1:1. Полученное извлечение сгущали и использовали для анализа.

Наилучшее разделение суммы БАВ наблюдалось в системе этилацетат – метанол – вода

Таблица 1

Хроматографическая характеристика биологически активных веществ 70 % этанольного извлечения из растительной композиции, обладающей гипогликемическим действием

№ п/п	R _f	Окраска в видимом свете		Окраска в УФ-свете	
		до обр. AlCl ₃	после обр. AlCl ₃	до обр. AlCl ₃	после обр. AlCl ₃
1	0,99	Бледно-зеленая	Бледно-зеленая	оранжевая	оранжевая
2	0,94	—	—	красная	красная
3	0,84	—	желтоватая	бледно-зеленовато-желтая	ярко-зеленовато-желтая
4	0,76	—	—	голубая	голубая
5	0,70	—	—	зеленая	зеленая
6	0,55	—	желтая	бледно-желтая	ярко-желтая
7	0,42	—	—	голубовато-зеленая	голубовато-зеленая
8	0,37	—	—	голубая	голубая
9	0,19	—	—	зеленая	зеленая
10	0,07	—	—	бело-голубая	бело-голубая

(100:17:13). На хроматограмме наблюдали 10 пятен (табл. 1).

По хроматографическому поведению и в сравнении со свидетелями установлено присутствие кверцетина и кофейной кислоты.

Методом ТСХ подтверждали наличие фруктозозанов и фруктозы. При рассмотрении полученной хроматограммы в видимом свете наблюдали пятно грязно-малинового света с R_f 0,15, значение которого совпадало со стандартом фруктозы.

В результате фитохимического исследования растительной композиции с использованием вышеуказанных методик было определено содержание некоторых групп БАВ и установлено, что преобладающими являются полисахариды и фенолкарбоновые кислоты (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Таким образом, проведено исследование качественного и количественного состава биологически активных веществ растительной композиции, обладающей гипогликемическим действием. Установлено присутствие кверцетина, кофейной кислоты, фруктозы. Определено количественное содержание некоторых групп БАВ.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки нормативной документации на растительную композицию, обладающую гипогликемическим действием и препаратов, полученных на ее основе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вопросы здравоохранения: Диабет // URL: http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/ru/ (дата обращения 01.04.2013)
2. Регистр лекарственных средств России РЛС/ Под ред. Г.Л. Вышковского. – М.: 2005. – вып. 5. – С.72–76.
3. Файзуллина Р.Р., Кудашкина Н.В., Басченко Н.Ж.

Таблица 2
Количественное содержание биологически активных веществ в сборе гипогликемическом

Группа БАВ	Содержание, %
Фруктозозаны низко- и высокомолекулярные и фруктоза	2,56 ± 0,11
Фруктоза свободная	0,10 ± 0,01
Полисахариды	7,80 ± 0,38
Флавоноиды в пересчете на кверцетин	0,66 ± 0,02
Фенолкарбоновые кислоты	1,39 ± 0,07

Влияние растительной композиции на течение экспериментального диабета у крыс // Медицинский вестник Башкортостана. – Т. 7, №5 (приложение). – 2012. – С.108–110.

4. Фогт В.П., Степанова Т.А. Содержание флавоноидов в противодиабетическом экстракте // Фармация. – 2007. – №4. – С.24–25.

5. Беляков К.В., Определение инулина в корневищах и корнях девясила высокого (*Inula helenium*) // Фармация. – 1998. – №1. – С.17–21.

6. Беляков К.В., Д.А. Шматков Д.А., Попов Д.М. Определение инулина в корнях лопуха большого // Фармация. – 1998. – №6. – С.17–20.

7. Ларькина М.С., Кадырова Т.В., Ермилова Е.В. Изучение накопления фенолкарбоновых кислот в надземной части василька шероховатого // Химия растительного сырья. – 2008. – №3. – С.71–74.

8. Государственная Фармакопея СССР Текст. 11-е изд. – М.: Медицина, 1990. – Вып. 2. – 400 с.

Адрес автора

Файзуллина Р.Р., доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии. faenata@yandex.ru