

Захарова А.С., Коновалова Ю.А., Смирнова Н.В., Мозуль В.И.,
Исаханов А.Л., Тржецинский С.Д., Фурса Н.С.

Ярославский государственный медицинский университет

ВЫЯВЛЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ХАМЕДАФНЫ ПРИЦВЕТНИЧКОВОЙ

Хамедафна прицветничковая (*Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench) – распространённое растение в умеренной зоне Российской Федерации, а за ее пределами в северных областях Западной Европы, Китая, Японии, Северной Америки. Она находит применение в народной медицине в качестве успокаивающего, противосудорожного, болеутоляющего и антисептического средства [8,9].

В эксперименте на животных предпринято изучение отдельных видов фармакологической активности хамедафны, в частности противосудорожной, диуретической, противовоспалительной. Экстракты на 40% и 70% этаноле обладали низкой токсичностью. Ширина терапевтического действия экстракта на 70% этаноле выше, чем на 40%. При изучении противосудорожной активности на моделях судорожных состояний, максимального электрошока и «коразолового» титрования отмечено, что экстракт на 70% этаноле обладал большей противосудорожной активностью по сравнению с экстрактом на 40% этаноле. Курсовое введение на протяжении трех суток существенно повышало противосудорожную активность. Экстракт хамедафны представляет интерес для изучения антидиуретической и антинариуретической активности. У 40% водно-спиртового экстракта обнаружена противовоспалительная активность при каррагениновом отеке [1,2].

В качестве объекта исследования служили листья хамедафны, собранные в фазу плодоношения в 2012 году в окрестностях п. Некрасовское Ярославской области.

Для проведения фармакологических исследований использованы белые ползрелые крысы-самцы линии Вистар массой 180-200 г. При этом моделирование инсулино-резистентности проводили с помощью чрезмерных доз глюкокортикоидов, приводящих к нарушениям секреторной функции панкреатических β -клеток. Каждая серия экспериментов, кроме группы животных, получавших экстракт листьев хамедафны, включала группу диабетических животных, получавших по аналогичной схеме плацебо (диабетический контроль), группу интактных животных (интактный контроль) и группу животных, которым вводили реферанс-препарат (гликлазид).

Дексаметазоновый диабет позволяет воссоздать главные патогенетические механизмы (нарушение секреции и действия инсулина), которые наблюдаются у больных сахарным диабетом 2 типа.

На протяжении 15 суток в одно и тоже время животным ежедневно внутримышечно вводили раствор дексаметазона в дозе 0,1 мг/кг для индукции инсулин-независимого стероидного диабета.

Густой экстракт хамедафны вводили в дозе 100 мг/кг в виде свежеприготовленной водной суспензии с добавлением твин-80.

Характеристику глюкозного гомеостаза проводили с использованием сравнительного теста толерантности к глюкозе. Гликемическую реакцию оценивали по площади под гликемическими кривыми, вычисляемых с помощью компьютерной программы Mathlab[7]. Содержание глюкозы в крови определяли с помощью глюкометра One Touch Select.

В результате проведенных фармакологических исследований нами выявлено выраженное гипогликемическое действие листьев хамедафны, которое в известной мере может быть обусловлено фенольными соединениями. Их предварительное обнаружение осуществляли с использованием специфических реакций на фенолгликозиды, дубильные вещества, гидроксикоричные кислоты и флавоноиды, а так же одномерной и двумерной хроматографии методом БХ и ТСХ.

При изучении состава фенольных соединений листьев хамедафны на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «GILSTON» (Франция) с использованием достоверных образцов нами обнаружены арбутин, катехины и их производные, гликозиды апигенина, лютеолина и кверцетина, кумарины, гидроксикоричные кислоты с доминированием о-кумаровой и феруловой кислот, гидроксibenзойные кислоты, представленные преимущественно галловой кислотой. Среди анализируемых веществ основную долю составляли флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, кумарины.

Оценку основных групп фенольных соединений в листьях хамедафны проводили при количественном определении фенологликозидов и гидроксикоричных кислот методом прямой спектрофотометрии, флавоноидов – методом дифференциальной спектрофотометрии в УФ – области, дубильных веществ – методом перманганатометрического титрования. В ходе эксперимента нами выявлены оптимальные условия экстракции фенологликозидов, флавоноидов и гидроксикоричных кислот из листьев хамедафны в зависимости от экстрагента, степени дисперсности сырья, времени экстрагирования, соотношения сырья и экстрагента [3-5].

Оптимальными условиями для извлечения флавоноидов являлись спирт этиловый 40%, степень измельчения сырья 1 мм, трехкратная экстракция по 15 минут и соотношение сырья и экстрагента 1:100; для гидроксикоричных кислот и фенологликозидов – экстрагент – 70% спирт этиловый, степень дисперсности сырья менее 1 мм, трехкратная экстракция по 15 минут и соотношение сырья и экстрагента 1:100. Для выявления недостатков методики количественного определения фенологликозидов на всех стадиях разработки нами проведена ее валидация по повторяемости, воспроизводимости, правильности и линейности. Результаты определений позволяют заключить, что разработанная нами методика высокочувствительна, правильна и воспроизводима [3-5].

Количественное определение полифенольных окисляемых веществ проводили по общепринятой методике [6].

Из результатов проведенных нами исследований следует, что содержание фенологликозидов (в пересчете на арбутин) в листьях хамедафны наблюдалось в пределах 7,44-8,14%, гидроксикоричных кислот (в пересчете на хлорогеновую кислоту) – 3,63-3,71%, флавоноидов (в пересчете на рутин) – 2,32-2,37%, дубильных веществ – 8,99-9,56% [3-5].

Следовательно, в результате фармакохимических исследований выявлено гипогликемическое действие и проведено количественное определение основных групп фенольных соединений в листьях хамедафны прицветничковой.

Литература:

1. Белоусов, М.В. Фармакогностическое исследование растений семейства вересковые флоры Сибири и Дальнего востока: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук / М.В. Белоусов – Томск, 1995. – 23 с.

2. Белоусов, М.В. Биологическая активность видов семейства Ericaceae флоры Сибири и Дальнего Востока / М.В. Белоусов, А.С. Саратиков, Р.Р. Ахмеджанова и др. // Растит. ресурсы. – 2006. – Т. 42, №2. – С. 90-101.

3. Горькова, А. С. Разработка и валидация методики количественного определения фенологликозидов в листьях хамедафны / А.С. Горькова, Н.С. Фурса // Вестник Воронежского государственного университета. Сер.: Химия. Биология. Фармация. – 2015. – N 3. – С. 108-112.

4. Горькова, А. С. Разработка методики количественного определения гидроксикоричных кислот в листьях хамедафны / А. С. Горькова, Н.С. Фурса // Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление инновационного развития фармацевтической науки: материалы Междунар. науч.- практ. конф. 1-3 декабря 2014 г. – Пермь: ПГФА, 2014. – С. 42-55.

5. Горькова, А. С. Разработка методики количественного определения флавоноидов в листьях хамедафны спектрофотометрическим методом / А.С. Горькова, М.В. Белоусов, Н.С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : Сб. науч. трудов. Вып. 70.- Пятигорск: Рекламно-информационное агенство на КМВ, 2015. – С. 22-25.

6. Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд. – Вып. 1. – Общие методы анализа / МЗ СССР. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

7. Исследования лекарственных средств [Текст]: метод. рекомендации / Под ред. А.В. Стефанова. – Киев, 2002. – С. 78-95.

8. Мазнев Н.И. Высокоэффективные лекарственные растения: Большая энциклопедия. – М.: Эксмо, 2012. – 608 с.

9. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Семейства Actinidiaceae – Malvaceae – Euphorbiaceae – Haloragacaceae / Ответ. ред. А.Л. Буданцев. Т. 2 – СПб. – М., 2009. – 513 с.