

А. В. Яницкая, И. Ю. Митрофанова, Ю. С. Шуленина

Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакогнозии и ботаники

ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ОСНОВА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

УДК 615.322:665.527.92(470.45)

В надземной части девясила высокого (*Inula helenium L.*) обнаружен богатый комплекс биологически активных веществ, среди которых преобладают фенольные соединения, а именно флавоноиды, которые, как известно, обладают широким спектром терапевтического эффекта. На основании этого в статье изложена методика количественного анализа флавоноидов травы девясила высокого.

Ключевые слова: девясил высокий, флавоноиды, нарингенин, спектрофотометрия.

A. V. Yanitskaya, I. Yu. Mitrofanova, Yu. S. Shulenina

PHYTOCHEMICAL BASIS OF RAW MATERIAL IN INULA HELENIUM HERB GROWING IN VOLGOGRAD REGION

In the overground part of *Inula helenium* a rich complex of biologically active substances was found, which are dominated by phenolic compounds, namely flavonoids, which are known to possess a wide range of therapeutic effects. On the basis of this the paper presents a technique of flavonoids quantitative order determination in the herb of *Inula helenium*.

Key words: *Inula helenium*, flavonoids, naringenin, spectrophotometry.

Несмотря на очевидный прогресс в развитии фармации и восстановительной медицины, поиск новых высокоэффективных средств и методов профилактики и лечения больных на различных этапах реабилитации остается весьма актуальной проблемой. Несмотря на ценность селективных препаратов, значительный интерес представляют средства многоуровневого воздействия природного происхождения, которые благодаря многообразию фармакоактивных компонентов оказывают комплексное влияние на организм. Рекордсменами среди источников биологически активных веществ, несомненно, являются растения. При этом важно отметить, что фитопрепараты более родственны организму по сравнению с синтетическими средствами, менее токсичны, в связи с чем снижается риск развития побочных эффектов, по окончании их приема не развивается привыкание. Наличие в составе растений вспомогательных компонентов наряду с основными позволяет реализовывать комплексный подход к терапии многих заболеваний, которые в подавляющем большинстве случаев требуют одновременного воздействия на несколько патогенетических звеньев.

Среди группы вторичных метаболитов растительных объектов особый интерес для современной медицины и фармации представляют флавоноиды, основным клинически доказанным в насто-

ящее время эффектом которых является участие в антиокислительных процессах. По данным исследований последних лет, антиоксидантная активность некоторых полифенольных соединений сравнима с таковой у синтетических лекарственных препаратов [6]. Известно, что процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) имеют универсальный характер в плане развития патологии и являются показателями стабильности гомеостаза [4]. Свободнорадикальное окисление липидов сопровождается многими жизненно важными процессами, протекающими в организме: от регуляции активности внутриклеточных ферментов до регуляции сердечно-сосудистой системы, внешнего дыхания, нервной регуляции сократительной функции желудка, капилляров, скорости апоптоза и экспрессии различных генов, ответственных за синтез белков, необходимых для нормальных физиологических процессов, но также и участвующих в развитии патологически измененных структур тканей и органов, что приводит к нарушению их функции [1]. Установлено, что свободнорадикальная модификация биологических мембран клеток выступает ведущим патогенетическим механизмом более чем 100 болезней, таких как сахарный диабет, атеросклероз, старение, аутоиммунные заболевания, болезнь Паркинсона и Альцгеймера, рак и др. Особое значение в последние годы приобретает воз-

возможность использования комплекса природных антиоксидантов в комплексной коррекции сахарного диабета, поскольку ключевую роль в его развитии наряду с генетическими и метаболическими факторами играет окислительный стресс, инициирующий образование свободных радикалов, которые, в свою очередь, запускают ПОЛ цитоплазматических мембран [11, 12]. В связи с этим одним из обязательных компонентов комплексной терапии сахарного диабета и его сосудистых осложнений является применение антиоксидантов [1].

Усиление липопероксидации и снижение функциональной активности системы антиоксидантной защиты способны существенно снизить резистентность организма к воздействию экстремальных факторов [4]. Данный факт повышает клинико-фармакологическую значимость веществ, обладающих антиоксидантными свойствами, позволяя рассматривать их в качестве потенциальных факторов, повышающих стрессоустойчивость организма.

Терапевтические эффекты биофлавоноидов не ограничиваются антиокислительными свойствами. Растения, содержащие комплекс полифенольных веществ, обладают Р-витаминной активностью и мембраностабилизирующим действием, уменьшая проницаемость и ломкость стенок кровеносных сосудов, характеризуются спазмолитическим, противовоспалительным и диуретическим эффектами [9]. Таким образом, использование биофлавоноидов чрезвычайно перспективно, поскольку они, являясь естественными антиоксидантами, легко и органично вступают в метаболические процессы в организме, нормализуя общее состояние организма на молекулярном уровне.

Несмотря на то, что лекарственные растения, содержащие в своем составе флавоноиды, широко используются в медицине, однако они весьма ограниченно рассматриваются в качестве средств антиоксидантной терапии. Одним из путей решения поставленной проблемы является углубленное изучение химического состава фармакопейных лекарственных растений, часто используемых по ограниченному числу показаний. Перспективным и доступным в значительных объемах в Волгоградской области источником флавоноидов может являться девясил высокий (*Inula helenium* L.) семейства астровые (*Asteraceae*). Официальное сырье указанного вида – корневища и корни (*Rhizomata et radices Inulae*) – содержит $(2,11 \pm 0,06)$ % фенольных соединений в пересчете на сухой остаток [10], в надземной части, в особенности в цветках, содержание флавоноидов выше. Важно, что помимо соединений с антиоксидантной активностью данный растительный объект содержит инулин. Последний участвует в регуляции уровня глюкозы в крови и повышает толерантность тканей к углеводам. Таким образом, девясил высокий может выступать перспективным источником комплекса

биологически активных веществ для лечения и профилактики сахарного диабета [8, 13], заболеваний сердечно-сосудистой системы [2], глаз [5], печени [3], атеросклероза, связанных с развитием окислительного или метаболического стресса.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Качественный и количественный анализ флавоноидов в надземной части девясила высокого, произрастающего в Волгоградской области, для обоснования характера и механизма его потенциально-го биологического действия.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Спиртовое извлечение из травы девясила высокого получали методом экстракции с последовательной сменой этанола 96, 70 и 40%-й концентрации. Точную навеску измельченной до размера частиц 1—3 мм травы девясила высокого, собранной в период полного цветения в Среднеахтубинском районе Волгоградской области, около 1,0 г помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляли 30 мл 96%-го этанола, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 30 минут. Затем колбу охлаждали под струей воды до комнатной температуры и содержимое фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию повторяли дважды поочередно 70 и 40%-м этанолом. Извлечения фильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу. Объем фильтрата доводили до метки 96%-м спиртом. Полноту извлечения флавоноидов из сырья подтверждали по отрицательной цианидиновой пробе со шротом [6].

С частью экстракта проводили качественные цветные реакции на флавоноиды по общепринятым методикам, таким как проба Синода (цианидиновая проба), проба с 1%-м спиртовым раствором хлорида алюминия, реакция со щелочью, проба с 0,5%-м спиртовым раствором хлорного железа, реакция с раствором основного ацетата свинца, реакция с раствором аммиака.

Аликвоту полученного раствора объемом 5 мл помещали в колбу на 25 мл, прибавляли 5 мл 5%-го спиртового раствора алюминия хлорида и 2—3 капли разведенной соляной кислоты. Объем смеси доводили до метки 96%-м спиртом этиловым и оставляли для прохождения реакции комплексообразования в защищенном от света месте 45 минут.

Оптическую плотность продукта взаимодействия спиртового извлечения из сырья девясила высокого с 5%-м спиртовым раствором алюминия хлорида в среде кислоты хлористоводородной разведенной — окрашенного хелатного комплекса — измеряли на спектрофотометре Solar PV 1251 С при длине волны $\lambda_{\max} = 377$ нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на нарингенин вели по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot W_1 \cdot W_2}{E_{1\%1\text{см}} \cdot m \cdot V_a}$$

где A_x – оптическая плотность исследуемого раствора;

W_1, W_2 – разведения, мл;

$E_{1\%1\text{см}}$ – ГСО нарингенина с алюминия хлоридом при $\lambda_{\text{max}} = 377$ нм;

m – масса навески исследуемого сырья, г;

V_a – объем аликвоты, мл [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фитохимический анализ извлечения из травы девясила высокого показал наличие в сырье флавоноидов, все проведенные качественные реакции дали положительный результат.

В результате проведенных исследований нами было установлено, что максимум оптической плотности УФ-спектра поглощения продукта взаимодействия спиртового извлечения из сырья девясила высокого с 5%-м спиртовым раствором алюминия хлорида в среде кислоты хлористоводородной разведенной спиртового извлечения находится $\lambda_{\text{max}} = 377$ нм и совпадает с максимумом оптической плотности УФ-спектра раствора государственного стандартного образца нарингенина — 5, 7, 4'-тригидроксифлаванона. Оптическая плотность при характеристической длине волны составила $(0,64 \pm 0,01)$ нм. На основании полученных результатов оценку суммарного содержания флавоноидов производили в пересчет на нарингенин и использовали его удельный показатель поглощения. Согласно литературным данным, удельный показатель поглощения комплекса раствора ГСО нарингенина с алюминия хлоридом при аналитической длине волны 377 нм равен $E_{1\%1\text{см}} = 70$.

Результаты количественного определения суммы флавоноидов в траве девясила высокого в пересчете на нарингенин

№	Оптическая плотность	Содержание флавоноидов в пересчете на нарингенин, %	Метрологические характеристики
1	0,655	4,68	S = 0,07 S ² = 0,004 ΔX = 0,07 ε, % = 1,58
2	0,636	4,54	
3	0,640	4,57	
4	0,640	4,57	
5	0,625	4,46	
6	0,639	4,56	
X _{ср}	0,639	4,57	

Содержание флавоноидов в траве девясила высокого в пересчете на нарингенин составило $(4,57 \pm 0,07)$ %. Статистическая обработка данных параллельных измерений показала, что относительная ошибка предложенной методики, ошибка единичного измерения равна 1,58 % (табл.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведения качественных реакций было подтверждено наличие флавоноидов в траве девясила высокого и определено их количественное содержание в пересчете на нарингенин методом спектрофотометрии. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования надземной части девясила высокого в качестве источника биофлавоноидов, что позволит расширить ассортимент фитопрепаратов для лечения и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы, глаз, печени, атеросклероза, сахарного диабета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М. // Проблемы эндокринологии. — 2000. — № 6. — С. 29—34.
2. Белая О. Л., Фомина И. Г., Байдер Л. М. и др. // Клин. мед. — 2006. — № 7. — С. 46—50.
3. Доркина Е. Г. // Эксп. и клин. фарм. — 2004. — Т. 67, № 6. — С. 41—44.
4. Журавлева О. А. Особенности процессов липопероксидации и реакций системы антиоксидантной защиты у космонавтов после полетов различной продолжительности: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2011. — 24 с.
5. Каражаева М. И., Саксонова Е. О., Клебанов Г. И. и др. // Вестн. офтальм. — 2004. — № 4. — С. 14—18.
6. Лалин А. А. и др. // Химия растительного сырья. — 2010. — № 2. — С. 91—97.
7. Лесовая Ж. С. и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. — 2010. — Т. 22, № 12. — С. 145—149.
8. Недосугова Л. В., Волковой А. К., Рудько И. А. и др. // Клин. фарм. и тер. — 2000. — Т. 9, № 4. — С. 65—67.
9. Петров Е. В. Лекарственные средства на основе растительных ресурсов Байкальского региона. — Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008. — 94 с.
10. Цыбикова Е. Н. и др. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН, 2009. — Т. 2, № 2. — С. 306—307.
11. Dave G. Hyperglycemia induced oxidative stress in type-1 and type-2 diabetic patients with and without nephropathy / G. Dave, K. Kalia // Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand). — 2007. — Vol. 53. — № 5. — P. 68—78.
12. Hansen S. H. // Research and Reviews. — 2001. — Vol. 17. — № 5. — P. 330—346.
13. Iwai K., Kim M. Y., Onodera A., et al. // J. Agric. Food Chem. — 2006. — Vol. 54 (13). — P. 4588—4592.