

ПОРІВНЯННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ ДІЇ ВОДНИХ ЕКСТРАКТІВ, СУСПЕНЗІЙ ЯКОНА ТА БЕЗАЛКАЛОЇДНОЇ ФРАКЦІЇ ЕКСТРАКТУ ГАЛЕГИ ЛІКАРСЬКОЇ

М. Хохла, Г. Гачкова, Н. Сибірна

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: khmarija@gmail.com

У статті проведено порівняльний скринінг впливу водних екстрактів листя й кореневих бульб якона (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson), суспензій кореневих бульб якона та безалкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської (*Galega officinalis* L.) на толерантність до глюкози у щурів. Як критерій сумарної відповіді на стандартний глюкозотолерантний тест розраховували інтегральний показник площі під глікемічними кривими (*AUC_{glu}*), який відображає загальне підвищення концентрації глюкози після споживання глюкози та досліджуваних екстрактів. Аналіз гіпоглікемічної дії водних екстрактів листя та кореневих бульб якона, стабілізованих і нестабілізованих суспензій кореневих бульб якона й безалкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської дає підстави стверджувати, що найкраща гіпоглікемічна дія притаманна корневим бульбам якона у формі стабілізованої суспензії, а також стабілізованих за допомогою біокомплексу PS безалкалоїдній фракції екстракту галеги лікарської. Досліджувані екстракти та суспензії з найвираженішою гіпоглікемічною дією є значно ефективніші в порівнянні з антидіабетичним рослинним збором «Арфазетин», та за цукрознижуючою дією не поступаються препарату «Сіофор».

Ключові слова: якон, галега лікарська, гіпоглікемічна дія.

Дедалі частіше медична фармакологія звертається до препаратів, створених на основі рослинної сировини. Лікарські рослини та лікарські засоби, які отримують із них, широко застосовуються у медичній практиці й користуються великим попитом у населення. На сьогодні використання рослинних препаратів у різних країнах становить 30-50 % від загального обсягу лікарських засобів, що випускаються. Підвищений попит на препарати рослинного походження і тенденція до їх широкого використання у медичній практиці не випадкові. Рослинні лікарські засоби мають цілий ряд безперечних переваг. Вони, як правило, відзначаються низькою токсичністю, легким засвоєнням, можливістю тривалого їхнього використання без ризику виникнення побічних явищ, м'якістю і надійністю впливу на організм та можуть застосовуватися при комплексному лікуванні різних захворювань. Препарати з лікарських рослин відрізняються від ліків, що є чистими хімічними сполуками, насамперед, наявністю багатьох органічно поєднаних біологічно активних речовин [1].

Перспективним є використання лікарських рослин для лікування цукрового діабету (ЦД). З огляду на широкий спектр уражень і ускладнень при ЦД з боку різних органів та систем, крім зниження вмісту глюкози у крові, є численні показання для призначення різних за механізмом дії лікарських рослин. До можливих патогенетичних механізмів їх ефекту належать: вплив на імунні процеси, пригнічення всмоктування глюкози в шлунково-кишковому тракті, стимулювання регенерації β -клітин острівців Лангерганса, нормалізацію перекисного окислення ліпідів, підвищення активності сорбітолдегідрогенази та стимуляція глікогенезу. Рослинна сировина може виступати допоміжним ресурсом мікроелементів, вітамінів і, відповідно, відігравати певну роль у

забезпеченні ферментних реакцій аеробного окислення глюкози як на стадії розщеплення глюкози до пірвіноградної кислоти, так і на стадії окислювального декарбоксілювання пірвіноградної кислоти [9]. Етноботанічні дослідження вказують на те, що понад 800 рослин використовуються як традиційні лікарські засоби для лікування ЦД. Серед них особливої уваги заслуговує галега лікарська (*Galega officinalis* L.), яка добре відома своєю гіпоглікемічною дією і часто використовується як компонент суміші рослин для лікуванні ЦД [10]. Ще однією рослиною, із вираженою цукрознижуючою дією є якон (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson), який має широкий спектр фармакологічних властивостей, у т. ч. протизапальні, протимікробні й антиоксидантні [7]. Однак рівень наукових досліджень та впровадженнь у практику фітотерапевтичних засобів на основі цих лікарських рослин у діабетології на сьогодні є недостатнім.

Метою роботи було провести порівняльний скринінг впливу водних екстрактів листя й кореневих бульб якона та безкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської на толерантність до глюкози у щурів.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 130–180 г, з дотриманням загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах.

Одержання водних екстрактів листя й кореневих бульб якона та суспензій кореневих бульб якона проводили згідно з [2], безкалоїдну фракцію екстракту галеги лікарської одержували відповідно до [5]. З метою підвищення стабільності й біодоступності біологічно активних речовин до суспензії кореневих бульб і безкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської додавали поверхнево-активні речовини біогенного походження – біокомплекс PS у концентраціях 0,00001 та 0,0033 г/мл, відповідно. Поверхнево-активний біокомплекс PS виділяли зі супернатанту культуральної рідини штаму *Pseudomonas sp.*

В експериментальних дослідженнях використовували такі групи тварин: 1) контрольні тварини (К); 2) контрольні тварини, яким вводили екстракт листя якона у дозах 70 та 500 мг/кг маси тіла тварини (ЕЛ⁷⁰ та ЕЛ⁵⁰⁰); 3) контрольні тварини, яким вводили екстракт кореневих бульб якона у дозах 70 та 500 мг/кг маси тіла тварини (ЕК⁷⁰ та ЕК⁵⁰⁰); 4) контрольні тварини, яким вводили суспензію кореневих бульб якона та її стабілізовану форму (СЯ та СЯps); 5) контрольні тварини, яким вводили безкалоїдну фракцію екстракту галеги лікарської та стабілізовану її форму (БФ ЕГЛ та БФ ЕГЛps); 6) контрольні тварини, яким вводили препарат «Сіюфор» (діюча речовина – метформіну гідрохлорид) у дозі 8,33 мг/кг маси тіла тварини; 6) контрольні тварини, яким вводили збір «Арфазетин» (приготований згідно інструкції) у дозі 70 мг/кг маси тіла тварини.

Глюкозотолерантний тест проводили вранці після 18-годинного голодування тварин. До та після вуглеводного навантаження проводили забір крові з хвостової вени щурів та визначали рівень глюкози. Вихідний рівень глюкози приймали за 100%. На основі одержаних результатів будували графік – глікемічну криву (натще – 0 точка, через 10, 20, 30, 40, 50, 60 хв після введення глюкози). Як критерій сумарної відповіді на стандартний глюкозотолерантний тест розраховували інтегральний показник площі під глікемічними кривими (area under a curve – *AUC_{glu}*), що відображає загальне підвищення концентрації глюкози після споживання глюкози. *AUC_{glu}* розраховували за допомогою правила трапецій. Статистичну обробку результатів проводили, використовуючи *t*-критерій Стьюдента з пакету аналізу даних комп'ютерної програми *Microsoft Excel*. Дані представлено у вигляді $M \pm m$ (n). Відмінність вважали вірогідною при загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях ймовірності похибки $P < 0,05$.

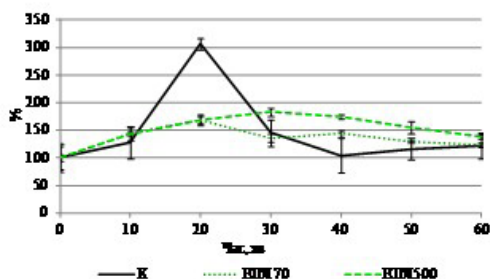
Результати і їхнє обговорення

У процесі оцінки цукрознижуючої дії лікарських рослин дослідження ефективності засвоєння екзогенної глюкози використовується як додатковий показник змін вуглеводного обміну. Пероральний тест толерантності до глюкози – метод дослідження нейрогормональної регуляції глікемії за її зміною у процесі навантаження глюкозою базується на тому, що екзогенна глюкоза стимулює секрецію інсуліну, а динамічні зміни глікемії відображають його дію [3].

Після внутрішньоочеревинного введення глюкози в дозі 1 г/кг нами було встановлено, що у контрольних тварин на 10-ту хвилину експерименту вміст вуглеводу підвищувався на 27 % (рис. 1). Цей перший підйом концентрації глюкози після проведення навантаження відображає силу рефлекторного подразнення симпатичних нервів, що виникає при потраплянні глюкози у травний канал [6]. На 20-ту хвилину після введення вуглеводу *per os* спостерігалось максимальне підвищення концентрації глюкози у крові (рис. 1), що пов'язано з швидкістю всмоктування вуглеводів (що визначається станом стінки кишечника) і функціонуванням печінки [6]. Після цього відмічено падіння рівня глюкози (30 хв), який до 40-50-ї хвилини експерименту знижувався до вихідного рівня, в межах якого і тримався до кінцевих термінів експерименту (60 хв). Низхідна гілка кривої відображає продукцію інсуліну та залежить від функціонального стану парасимпатичної нервової системи й функціонування підшлункової залози. Цей відрізок кривої називається гіпоглікемічною фазою. Остання точка на глікемічній кривій відображає стан системи утилізації глюкози, та в нормі дорівнює або є нижчою на 10-15 % від вихідного рівня глюкози [6].

Введення контрольним тваринам водного екстракту листя у досліджуваних концентраціях зумовлює зменшення глікемічного піку на 20-ту хвилину. У разі застосування екстракту рівень глюкози нормалізувався через 1 год з моменту глюкозного навантаження, що було характерно і для контрольних тварин, проте падіння рівня глюкози було не настільки виражене, як у контрольних тварин (рис. 1). Порівнюючи гіпоглікемічну дію екстракту кореневої частини якона у досліджуваних концентраціях встановлено виражений вплив на толерантність до глюкози у здорових тварин. При введенні екстракту в дозі 70 мг/кг змінюється характер глікемічної кривої зі зниженням піку та його зміщенням до 30-ї хвилини. У дозі 500 мг/кг встановлено зменшення вираженості піку (20-та хвилини) з повторним підвищенням концентрації глюкози на 40-ву хвилину після вуглеводного навантаження (рис. 1).

А



Б

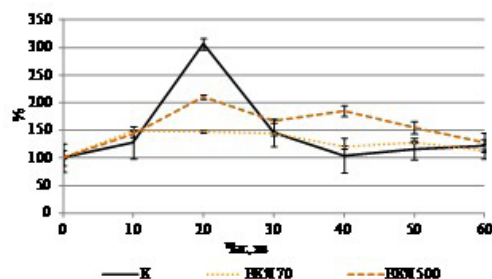


Рис. 1. Зміни концентрації глюкози у крові здорових щурів після цукрового навантаження на фоні введення водних екстрактів листя (А) та кореневих бульб (Б) якона.

Відсутність змін характеру кривих у межах 0-10 хвилин після вуглеводного навантаження при застосуванні обох досліджуваних екстрактів свідчить про відсутність

впливу біологічно активних речовин цих екстрактів на силу рефлекторного подразнення симпатичних нервів, що виникає при потраплянні глюкози у травний канал. Зниження вираженості піку на глікемічній кривій при застосуванні екстрактів листя та кореневих бульб свідчить про їхній вплив на швидкість всмоктування вуглеводів, а менш виражена гіпоглікемічна фаза опосередковано свідчить про вплив досліджуваних екстрактів на продукування інсуліну.

Суспензії корневих бульб якона виявляють виражений гіпоглікемічний ефект у контрольних групах тварин. На фоні введення досліджуваних форм суспензій після цукрового навантаження нами було відмічено відсутність значних коливань концентрації глюкози (рис. 2), що може свідчити про одночасний вплив цих суспензій на всмоктування вуглеводів та на інсулінпродукуючий апарат організму.

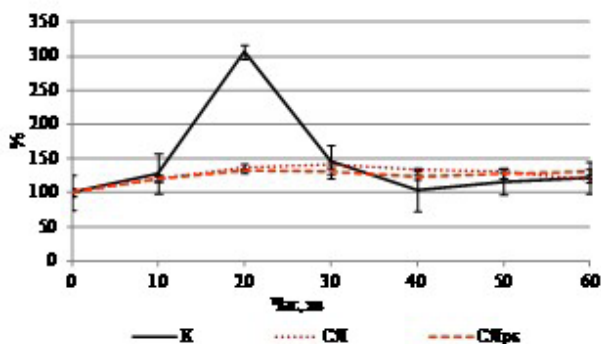


Рис. 2. Зміни концентрації глюкози у крові здорових щурів після цукрового навантаження на фоні введення суспензій корневих бульб якона

При дослідженні впливу БФ ЕГЛ на інтенсивність засвоєння глюкози нами було встановлено, що обидві форми екстракту зумовлюють пригнічення всмоктування вуглеводів у шлунково-кишковому тракті, на що вказує відсутність глікемічного піку. При застосуванні БФ ЕГЛ, без використання стабілізатора, призводить до підвищення концентрації глюкози на 30-50-ту хвилини після навантаження. Встановлені зміни можуть свідчити про сповільнення всмоктування глюкози у шлунково-кишковому тракті. Натомість при застосуванні стабілізованої форми БФ ЕГЛ продемонстровано відсутність значного впливу біологічно активних речовин у складі безкалоїдної фракції на характер глікемічної кривої в діапазоні 30-60 хвилин.

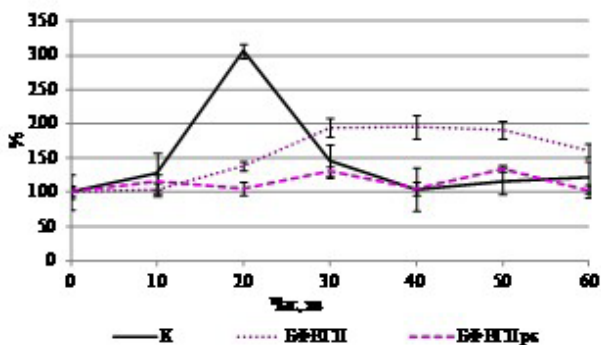


Рис. 3. Зміни концентрації глюкози у крові здорових щурів після цукрового навантаження на фоні введення безкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської та стабілізованої її форми

Для оцінки ефективності цукрознижувачої дії водних екстрактів листя й корневих бульб якона та безкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської нами було досліджено цукрознижувачу активність перорального цукрознижувачого препарату «Сіофор». Сіофор містить метформіну гідрохлорид, який не змінює секреції інсуліну і не здійснює

біологічного цукрознижуючого ефекту за його відсутності. За наявності інсуліну він збільшує периферичну утилізацію глюкози насамперед у м'язових і жирових тканинах за допомогою активування пострецепторних механізмів дії інсуліну, зокрема, збільшення активності тирозинкінази, фосфотирозинфосфатази і глюкозних транспортерів ГЛЮТ-1, ГЛЮТ-3, ГЛЮТ-4; знижує інтенсивність глюконеогенезу; підвищує утилізацію глюкози кишківником.

При його введенні здоровим тваринам встановлено відсутність піку підвищення глюкози, що свідчить про підвищену утилізацію глюкози у шлунково-кишковому тракті, а відсутність змін у межах 30-60 хвилин свідчить про те, що препарат «Сіофор» не впливає на продукування інсуліну (рис. 4).

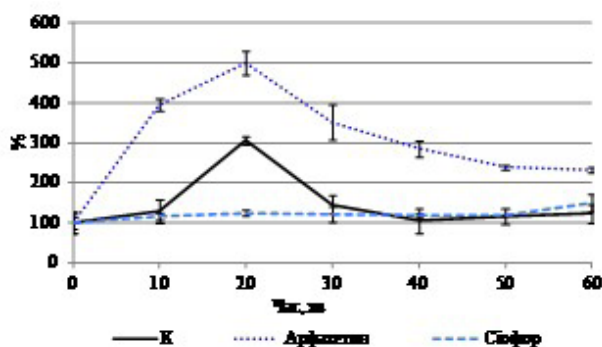


Рис. 4. Зміни концентрації глюкози у крові здорових щурів після цукрового навантаження на фоні введення препарату «Сіофор» та збору «Арфазетин»

Оскільки «Сіофор» є синтетичним препаратом, а в ході дослідження нами було використано рослинні екстракти, то на нашу думку, доцільним було порівняти їхню цукрознижуючу дію з єдиним на сьогодні в Україні зареєстрованим антидіабетичним рослинним збором «Арфазетин», що у своєму складі містить пагони чорниці звичайної, стулки плодів квасолі звичайної, кореневища і корені елеутерококу колючого, плоди шипшини, траву хвоща польового, траву звіробою, квітки ромашки. Компоненти збору містять ефірну олію, флавоноїди, кумарини, полісахариди, мінеральні солі, органічні кислоти, дубильні речовини, алкалоїди, смолисті речовини. Цей комплекс біологічно активних речовин проявляє гіпоглікемічну дію при цукровому діабеті 2-го типу підвищуючи толерантність до вуглеводів.

При одночасному введенні глюкози та збору «Арфазетин» нами встановлено значні зміни глікемічної кривої, порівняно з контрольними тваринами. Зокрема, встановлено значне підвищення концентрації глюкози на 10-ту хвилину експерименту, з подальшим зростанням концентрації вуглеводу на 20-ту хвилину. Починаючи з 20-ї хвилини концентрація глюкози починала знижуватися, проте зниження до базального рівня так і не було досягнуто (рис. 4). Такі зміни глікемічної кривої при використанні досліджуваного збору вказують на порушення стану системи утилізації глюкози та можуть бути зумовлені наявністю полісахаридів у складі лікарського збору.

Як критерій сумарної відповіді на стандартний глюкозотолерантний тест розраховували інтегральний показник площі під глікемічними кривими (AUC_{glu}), який відображає загальне підвищення концентрації глюкози після споживання глюкози та досліджуваних екстрактів. Незважаючи на зміну глікемічних кривих нами встановлено відсутність достовірних змін показника AUC_{glu} при застосуванні водних екстрактів листя та кореневих бульб якона у двох досліджуваних концентраціях. Натомість застосування нестабілізованої та стабілізованої форми суспензії кореневих бульб якона зумовлює зниження AUC_{glu} , відповідно

на 15 % та 18 %, порівняно з контролем (рис. 5). Найбільш виражена гіпоглікемічна дія кореневих бульб якона може бути зумовлена високим вмістом фруктоолігосахаридів (ФОС). Ці сполуки змінюють кінетику абсорбції макронутрієнтів, особливо вуглеводів, шляхом їх адсорбції і, відповідно, зниження їх всмоктування у кров, що в кінцевому результаті зумовлює нормалізацію вироблення власного інсуліну клітинами підшлункової залози. [11]. ФОС також модулюють концентрацію таких кишкових пептидів, як GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide) і GLP-1 (glucagon-like peptide 1), що регулюють вивільнення інсуліну після вживання їжі [8].

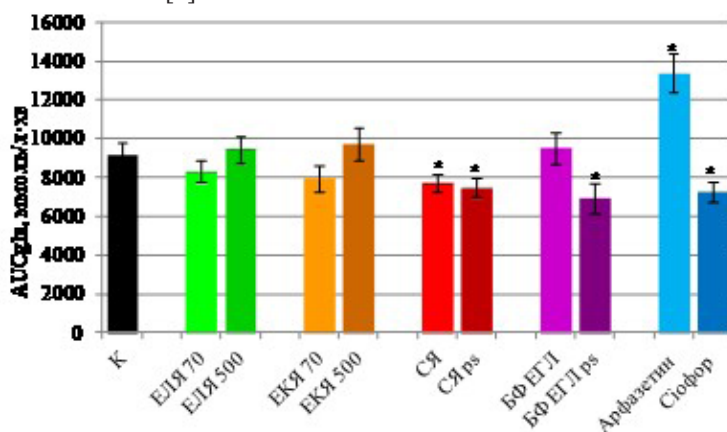


Рис. 5. Вплив екстрактів і суспензій якона, безалкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської та препарату «Сіофор» і збору «Арфазетин» на площу під глікемічними кривими після глюкозного навантаження щурів (M±m, n=4–8): * – різниця вірогідна порівняно з контролем, P < 0,05

Застосування БФ ЕГЛ не призводить до достовірних змін площі під глікемічними кривими, проте за умов стабілізації досліджуваного екстракту біокомплексом PS встановлено значне зниження AUC_{Glu} (на 24 %) щодо контролю. Це може бути обумовлене зростанням розчинності або збільшенням біодоступності біологічно активних речовин у складі екстракту.

Цукрознижувальний ефект досліджуваних екстрактів галеги лікарської зумовлений наявністю у їхньому складі фітолу, етилового естеру пальмітинової кислоти, фітостеролів (кампестеролу і стигмастеролу), α -амірину, похідними хіназоліну або їхньою синергічною дією [4].

При застосуванні «Арфазетину» було встановлено підвищення площі під глікемічними кривими на 47 %, тоді як використання синтетичного препарату «Сіофор» зумовлює зниження досліджуваного показника на 21 % (рис. 5).

Порівняльний аналіз гіпоглікемічної дії водних екстрактів листя та кореневих бульб якона, стабілізованих і нестабілізованих суспензій кореневих бульб якона та безалкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської, яку оцінювали за показниками тесту толерантності до глюкози й аналізуючи площу під глікемічними кривими, дає підстави стверджувати, що найкраща цукрознижувача дія притаманна кореневим бульбам якона у формі стабілізованої суспензії, а також стабілізований за допомогою біокомплексу PS безалкалоїдний фракції екстракту галеги лікарської. Варто зазначити, що досліджувані екстракти з найвираженішою гіпоглікемічною дією значно ефективніші порівняно з антидіабетичним рослинним збором «Арфазетин», а за цукрознижувачою дією не поступаються препарату «Сіофор».

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Білоус В.А. Нове в фітотерапії. Досвід двадцятирічної боротьби і життя з цукровим діабетом // Медичний форум. 2014. Т. 2. № 2. С. 17–22.
2. Горбулінська О. В., Хохла М. Р., Гачкова Г. Я. та ін. Вплив якона (*Smallanthus Sonchifolius* Poerr. & Endl.) на клітини крові щурів за умов експериментального цукрового діабету // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Т. 71. С. 31–42.
3. Ланга С. С., Поспелов Л. А., Соловьєва О. И. Компьютерная ранняя диагностика сахарного диабета методами математического моделирования // Вісник НТУ «ХПІ». 2014. Т. 36. С. 55-61.
4. Лунак М. І., Хохла М. Р., Гачкова Г. Я. та ін. Застосування біогенних поверхнево-активних речовин для стабілізації фітопрепарату на основі безалкалоїдної фракції екстракту козлятника лікарського (*Galega officinalis* L.) // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. 2015. Т. 9. № 1. С. 5–16.
5. Хохла М., Клевета Г., Лунак М. та ін. Дослідження компонентного складу екстракту козлятника лікарського // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2013. Т. 62. С. 55–60.
6. Яровой С. П. Особенности углеводного обмена на фоне бронхиальной астмы и экстрасистолической аритмии у детей // Таврич. мед.-биол. вестник. 2012. Т. 15. № 2. С. 286–288.
7. Barcellona C. S., Cabrera W. M., Honore S. M., et al. Safety assessment of aqueous extract from leaf *Smallanthus sonchifolius* and its main active lactone, enhydrin // *Journ. of Ethnopharmacol.* 2012. Vol. 144. P. 362–370.
8. Delzenne N. M., Kok N. N. Biochemical Basis of Oligofructose-Induced Hypolipidemia in Animal Models // *J. Nutr.* 1999. Vol. 129. P. 1467S–1470S.
9. Hui H., Tang G., Go V. L. W. Hypoglycemic herbs and their action mechanisms // *Chin. Med.* 2009. Vol. 4. № 11. P 1–11.
10. Khodadadi S. Administration of *Galega officinalis* in experimental and clinical investigations; a narrative review // *Ann. Res. Antioxid.* 2016. Vol. 1. № 1. P. e03.
11. Roberfroid M. B. Inulin – type fructans: functional food ingredients // *J. Nutr.* 2007. Vol. 137. № 11. P. 2493S–2502S.

Стаття: надійшла до редакції 27.07.16

доопрацьована 5.09.16

прийнята до друку 6.09.16

A COMPARISON OF HYPOGLYCEMIC ACTION OF YACONS WATER EXTRACTS, SUSPENSIONS AND ALKALOID-FREE FRACTION FROM *GALEGA OFFICINALIS* EXTRACT

M. Khokhla, G. Hachkova, N. Sybirna

Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

e-mail: khmarija@gmail.com

This article provides a comparative screening of water extracts of yacons (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) leaves and root tubers, suspensions of yacons root tubers and alkaloid-free fraction from *Galega officinalis* L. extract effect on glucose tolerance in rats. As a criterion of total responses to standard glucose tolerance test

integral factor of area under the glycemic curves (*AUC_{glu}*) were calculated, it reflects the general rise in glucose after consumption of glucose and studied extracts. Analysis of hypoglycemic action of yacons leaves and root tubers water extracts, stabilized and unstabilized suspensions of yacons root tubers and alkaloid-free fraction from *Galega officinalis* extract, gives reason to believe that the best hypoglycemic effect inherent to yacons root tubers in the form of a stabilized suspension and to stabilized by biocomplex PS alkaloid-free fraction from *Galega officinalis* extract. The investigated extracts and suspensions with best hypoglycemic effect is much more effective in comparison with antidiabetic plant collection «Arphasetinum» and its hypoglycemic action are on the same level with drug «Siofor».

Keywords: yacon, *Galega officinalis*, hypoglycemic effect.

СРАВНЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ, СУСПЕНЗИЙ ЯКОНА И БЕЗАЛКАЛОИДНОЙ ФРАКЦИИ ЭКСТРАКТА ГАЛЕГИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

М. Хохла, Г. Гачковая, Н. Сибирная

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: khmarija@gmail.com*

В статье проведен сравнительный скрининг влияния водных экстрактов листьев и корневых клубней якона (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson), суспензий корневых клубней якона и безалкалоидной фракции экстракта галеги лекарственной (*Galega officinalis* L.) на толерантность к глюкозе у крыс. В качестве критерия суммарного ответа на стандартный глюкозотолерантный тест рассчитывали интегральный показатель площади под гликемическими кривыми (*AUC_{glu}*), который отражает общее повышение концентрации глюкозы после потребления глюкозы и исследуемых экстрактов. Анализ гипогликемического действия водных экстрактов листьев и корневых клубней якона, стабилизированных и нестабилизированных суспензий корневых клубней якона и безалкалоидной фракции экстракта галеги лекарственной дает основания утверждать, что лучшее гипогликемическое действие присуще корневым клубням якона в форме стабилизированной суспензии, а также стабилизированной с помощью биоконплекса PS безалкалоидной фракции экстракта галеги лекарственной. Исследуемые экстракты и суспензии с наиболее выраженным гипогликемическим действием значительно более эффективны в сравнении с противодиабетическим растительным сбором «Арфазетин», и по сахароснижающему действию не уступают препарату «Сиофор».

Ключевые слова: якон, галега лекарственная, гипогликемическое действие.