

# ПРОТИВООПИСТОРХОЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА ВАСИЛЕК (CENTAUREA) ФЛОРЫ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

И.П. Каминский, Т.В. Кадырова, В.В. Иванов, М.В. Белоусов  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ (г. Томск)

## Antiopisthorchiasis activity of some Siberian flora Centaurea species

I.P. Kamisnkiy, T.V. Kadyrova, V.V. Ivanov, M.V. Belousov  
Siberian State Medical University (Tomsk, Russia)

### РЕЗЮМЕ

В экспериментах на золотистых хомяках-самцах исследована противоописторхозная активность (в отношении *Opisthorchis felineus*) экстрактов, полученных из *Centaurea scabiosa* L., *Centaurea pseudomaculosa* Dobroc., *Centaurea jaceae* L. и *Centaurea phrygia* L. семейства Asteraceae. Подтверждено наличие противоописторхозной активности у выделенного из *Centaurea scabiosa* L. сесквитерпенового лактона гваянового типа – цинаропикрина. Высказано предположение о наличии противоописторхозной активности у сесквитерпеновых лактонов гроссгемина и репина.

**Ключевые слова:** Описторхоз, *Opisthorchis felineus*, *Centaurea scabiosa*, *Centaurea pseudomaculosa*, *Centaurea jaceae*, *Centaurea Phrygia*, сесквитерпеновые лактоны, цинаропикрин, противоописторхозная активность.

### RESUME

In experiments on the golden hamsters-males antiopisthorchiasis activity (with respect to *Opisthorchis felineus*) of extracts obtained from *Centaurea scabiosa* L., *Centaurea pseudomaculosa* Dobroc., *Centaurea jaceae* L. and *Centaurea phrygia* L. Asteraceae family was investigated. Antiopisthorchiasis activity of sesquiterpene lactone guainolide-type cynaropicrin isolated from *Centaurea scabiosa* L. was confirmed. It's suggested that sesquiterpene lactones grosshemin and repin has an antihelminthic activity.

**Keywords:** *Opisthorchis felineus*, *Centaurea scabiosa*, *Centaurea pseudomaculosa*, *Centaurea jaceae*, *Centaurea Phrygia*, sesquiterpene lactones, cynaropicrin, antiopisthorchiasis activity.

### ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие печеночные гельминтные инфекции (энтеробиоз, аскаридоз, лямблиоз, описторхоз и др.) постепенно превращаются из локальной проблемы отдельных регионов в широко распространенную проблему глобального характера. Данная тенденция может быть связана с возрастающей интенсивностью транспортных потоков и миграцией инфицированных носителей [1].

Описторхоз, возбудителями которого являются *Opisthorchis felineus* и *Opisthorchis viverrini* – трематоды, принадлежащие к семейству Opisthorchiidae, относится к зооантропонозным заболеваниям [2]. Степень зараженности этим гельминтозом определяется этническими или традиционными особенностями питания и потреблением в пищу необеззара-

женной рыбы. Крупнейший в мире очаг описторхоза сформировался в Обь-Иртышском речном бассейне. В России ареал описторхоза, вызываемого *O. felineus* [3], простирается от бассейна Енисея до западных границ Европы. Ряд случаев заражения указанным гельминтом отмечен в странах ЕС: Италии, Германии, Польше, Португалии и Испании [4]. Очаги описторхоза, вызываемого *Opisthorchis viverrini*, имеются в странах Юго-Восточной Азии (Таиланд, Лаос, Вьетнам, Камбоджия) [5].

Огромная инвазированность населения разных регионов и стран представляет собой тяжелую гигиеническую, экологическую и общественную проблемы. Известно, что описторхозная инвазия сопровождается гепатомегалией, холангитом, фиброзом перипортальной системы, холециститом и др. заболеваниями

[6]. Кроме того, Международным агентством по изучению рака (IARC) и Всемирной организацией здравоохранения (WHO) возбудитель описторхоза отнесен к первой группе канцерогенов, т.к. является этиологическим фактором развития рака желчных протоков и холангиокарциномы [7].

В терапии описторхоза любого происхождения используют синтетический противопаразитарный препарат празиквантел, обладающий рядом побочных эффектов и противопоказаний [8]. В связи с этим возрастает актуальность поиска высокоэффективных и малотоксичных лекарственных средств для лечения описторхоза. Несмотря на существующие инструменты для моделирования химической структуры вещества в зависимости от свойств молекулярной мишени, скрининг молекул природного происхождения по-прежнему не теряет своей актуальности и является источником многих перспективных лекарственных кандидатов. В основном это связано с тем, что нативная химическая структура таких соединений, благодаря близости метаболизма растительной и животной клеток, способна обеспечивать эффективное фармакологическое взаимодействие, наряду с низкой вероятностью возникновения нежелательных побочных реакций организма.

Группа сесквитерпеновых лактонов, продуцируемых растениями семейства Asteraceae, является одним из ярких примеров биологически активных веществ, нашедших широкое применение в медицинской практике. Наибольший интерес представляют антипаразитарная (описторхоз, лямблиоз, малярия) и противоопухолевая виды активности сесквитерпеновых лактонов [9].

Данная статья посвящена обзору результатов экспериментальных исследований противоописторхозной активности сесквитерпеноидсодержащих растений рода *Centaurea*, а также активности их индивидуальных соединений.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования: *Centaurea scabiosa* L. (CS), *Centaurea pseudomaculosa* Dobroc. (CP), *Centaurea jaceae* L. (CJ) и *Centaurea phrygia* L. (CPH).

Наземную часть указанных растений собирали в фазе массового цветения в различных областях Сибирского федерального округа России в течение 2015 года: CS и CP – в Томской области (окрестности г. Томска); CJ

и CPH – в Кемеровской области (окрестности пос. Новобалахоновка). Растительный материал сушили воздушно-теньевым способом и измельчали до размера частиц не более 2 мм.

Экстрактивные комплексы растений получали методом бисмацерации с использованием воды очищенной, 40 % и 70 % этилового спирта. Растворители из полученных экстрактов удаляли под вакуумом в ротационном испарителе при температуре до 50 °С.

Сухие экстракты CS, CP, CJ и CPH на 70 % этаноле представляли собой вязкую массу темно-зеленого цвета со специфическим запахом, а при экстракции 40 % этанолом и водой – порошки коричневого цвета со специфическим запахом. Обнаружение сесквитерпеновых лактонов в сухих экстрактах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе HEWLETT PACKARD Agilent 1100 Series (США) в изократическом режиме в следующих условиях: аналитическая колонка, заполненная сорбентом Zorbax SB-C18 (4,6 x 150 мм, размер частиц – 5 мкм); состав подвижной фазы: метанол – вода в соотношении 50:50; детектирование при длине волны 204 нм; температура колонки – 25 °С; скорость подвижной фазы 0,5 мл/мин.; объем вводимой пробы 20 мкл.

Для выделения цинаропикрина, который по данным литературы, может проявлять специфическую противоописторхозную активность [10], измельченное сырье CS подвергали 3-кратной экстракции смесью хлороформ-этанол 4:1 при соотношениях сырье-экстрагент 1:8, 1:7, 1:7 и нагревании до 60 °С. Продолжительность первой экстракции составляла 2 ч, последующих двух – 1 ч. Хлороформно-этанольные извлечения объединяли и растворитель удаляли на ротационном испарителе при температуре 40 °С. Полученные сгущенные экстракты растворяли в 2-х частях горячего этанола, прибавляли 1 часть воды, нагретой до 70 °С, и оставляли в темном месте на сутки. Выделившийся осадок отфильтровывали и дважды обрабатывали в указанных условиях. Для отделения парафиновой части объединенные фильтраты трижды экстрагировали в делительной воронке петролейным эфиром (фракция с температурой кипения 40–70 °С) при соотношении 1:1, а затем аналогичным образом – хлороформом для извлечения фракции сесквитерпеновых лактонов.

Разделение фракции сесквитерпеновых лактонов проводили методом колоночной хро-

матографии на силикагеле марки КСК с размером частиц 120/220 мкм. Элюентом служила смесь петролейного эфира с увеличивающимся градиентом этилацетата. Контроль за разделением осуществляли методом хроматографии в тонком слое на пластинках «Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ» (Россия) в подвижной фазе гексан-ацетон-уксусная кислота (20:10:0,1). Для сравнения использовали рабочие стандартные образцы сесквитерпеноидов, выделенных и идентифицированных нами ранее. При элюировании колонки смесью петролейного эфира и этилацетата в соотношении 80:20 получены фракции, содержащие сесквитерпеновый лактон гваянового типа цинаропикрин [11–13]. Чистота выделенного соединения, установленная методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии, составила 85,4 %.

Модель экспериментального описторхоза воспроизводили на золотистых хомяках-самцах массой 40–45 г по общепринятой методике [14]. Для этого из зараженной *O. felineus* рыбы, преимущественно ельца и плотвы методом переваривания в искусственном желудочном соке выделяли метацеркарии *O. felineus*. Заражение животных осуществляли путем внутрижелудочного введения жизнеспособных метацеркариев в количестве по 50 экз. в 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида. Золотистых хомячков содержали в условиях вивария при естественном световом режиме на стандартной диете при свободном доступе к воде и пище.

На 30-й день инвазии производили контрольное вскрытие нескольких животных. В результате исследования органов гепатобилиарной системы (печень, желчный пузырь) было выявлено значительное количество марит описторхов, что подтвердило факт развития описторхоза.

Противоописторхозное действие сухих экстрактов CS, CP, CJ и CPN, полученных на 70 %, 40 % этаноле и воде очищенной, а также цинаропикрина оценивали на 120 зараженных животных, масса которых на 30-й день инвазии возросла до 90–110 г.

Подопытные животные были распределены на 11 групп: группа №1 (интактная) – здоровые животные; группа №2 (контрольная) – животные с описторхозом. Группа №3 – животные больные описторхозом, получавшие препарат сравнения – празиквантел, в виде суспензии на 1 % крахмальной слизи в дозе 20 мг/кг массы животного 2 раза в день в течение

1 дня. Данная доза и схема введения максимально эффективны при лечении описторхоза, вызванного *O. felineus* [15].

Группы №№ 4–6 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты CS на 70 %, 40 % этаноле и воде очищенной, соответственно.

Группы №№ 7, 8 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты CP на 70 % и 40 % этаноле, соответственно.

Группы №№ 9, 10 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты CJ на 70 % и 40 % этаноле, соответственно.

Группа № 11 – животные больные описторхозом, получавшие сухой экстракт CPN на 40 % этаноле.

Поскольку указанные экстракты являются не токсичными ( $LD_{50}$  более 5000 мг/кг), то их вводили в максимально возможной разовой дозе 2,0 г/кг, ограниченной физиологическими возможностями экспериментальных животных, в виде суспензии на 1 % крахмальной слизи три раза в день в течение пяти дней.

Группа № 12 – животные больные описторхозом, получавшие цинаропикрин в дозе 40 мг/кг массы животного в виде суспензии на абрикосовом масле аналогично схеме введения празиквантела – два раза в день в течение одного дня.

Все исследуемые образцы вводили внутрижелудочно через металлический зонд; латентный период после окончания курсового лечения составил 14 дней. В течение указанного времени происходит естественное выведение марит описторхов, утративших жизнеспособность в результате лечения. По истечении этого срока животных усыпляли углекислым газом, извлекали печень и производили подсчет марит описторхов в органах гепатобилиарной системы (рассчитывали коэффициент интенсивности, являющийся критерием противоописторхозной активности) [14]:

$$ИЭ = \frac{K - O}{K} \times 100\%,$$

где  $K$  – среднее число марит *O. felineus* в контрольной группе;

$O$  – среднее число марит описторхов в экспериментальной группе.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате исследования установлено, что наибольшей противоописторхозной активностью обладают экстракты *S. scabiosa*,

*C. pseudomaculosa* и *C. jaceae*, полученные с использованием в качестве экстрагента 40 % этанола: коэффициент ИЭ составил 71,6 %, 69,7 % и 68,11 % (табл. 1). При этом экстракт CS продемонстрировал уровень активности сопоставимый с препаратом сравнения празиквантелом (ИЭ празиквантела – 75,31 %).

Экстракт *C. scabiosa*, полученный на 70 % этаноле, проявил несколько меньшую активность – его показатель интенс-эффективности составил 64,11 %. Водный экстракт *C. scabiosa* проявил умеренную противоописторхозную активность (показатель ИЭ – 53,13 %).

Наиболее низкие показатели противоописторхозной активности продемонстрировали экстракты *C. pseudomaculosa* и *C. jaceae*, полученные на 70 % этаноле: их показатели ИЭ составили 32,86 и 30,33 %, соответственно. Экстракт *C. phrygia* практически не обнаружил активности (ИЭ – 14,28 %).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Для обоснования полученных результатов определения противоописторхозной активности было проведено сравнительное исследование химического состава наиболее эффективных экстрактов *C. scabiosa* и *C. pseudomaculosa* методом ВЭЖХ. В составе экстрактивного

комплекса CS, полученного с использованием 40 % этанола, обнаружены три сесквитерпеновых лактона гваянового типа – гроссгемин, репин и цинаропикрин (рис. 1) с количественным содержанием в образце 0,83; 0,45 и 1,23 %, соответственно (рис. 2). Экстракт CP, полученный тем же растворителем, содержит только гроссгемин и цинаропикрин с количественным содержанием в образце 0,7 % и 1,2 %, соответственно (рис. 3).

Указанные сесквитерпеновые лактоны являются известными соединениями и содержатся во многих представителях рода *Centaurea*. Гроссгемин [12], репин [13] и цинаропикрин [14] имеют очень близкое химическое строение (рис. 3) и, вероятно, представляют собой вторичные метаболиты одного биохимического пути исследованных растений.

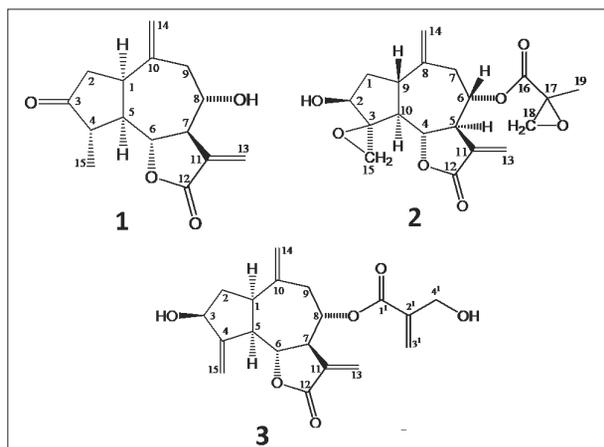
Для подтверждения литературных данных о противоописторхозной активности цинаропикрина, было произведено его выделение из *C. scabiosa* с последующим фармакологическим исследованием. В эксперименте *in vivo* был подтвержден противоописторхозный эффект изолированного цинаропикрина (показатель интенс-эффективности составил 34,11 %).

Таким образом, результаты химико-фармакологического исследования не демонстри-

Таблица 1

#### Результаты исследования противоописторхозной активности экстрактивных комплексов *Centaurea scabiosa* L., *Centaurea pseudomaculosa* Dobroc., *Centaurea jaceae* L., *Centaurea phrygia* L.

Экспериментальная группа (исследуемый образец)	Кол-во животных, шт.	Доза, г/кг (схема введения)	ИЭ,%
Группа №1 (интактная – здоровые животные)	10	–	–
Группа №2 (контрольная – животные с описторхозом)	10	–	–
Группа №3 (празиквантел)	10	0,02 (2 раза в день – 1 день)	75,31 ± 1,24
Группа №4 (70 % этанольный экстракт CS)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	64,11 ± 2,17
Группа №5 (40 % этанольный экстракт CS)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	71,6 ± 2,99
Группа №6 (водный экстракт CS)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	53,13 ± 1,84
Группа №7 (70 % этанольный экстракт CP)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	32,86 ± 2,55
Группа №8 (40 % этанольный экстракт CP)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	69,70 ± 2,79
Группа №9 (70 % этанольный экстракт CJ)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	30,33 ± 1,87
Группа №10 (40 % этанольный экстракт CJ)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	68,11 ± 3,45
Группа №11 (40 % этанольный экстракт CPH)	10	2,0 (3 раза в день – 5 дней)	14,28 ± 8,08
Группа №12 (цинаропикрин)	10	0,04 (2 раза в день – 1 день)	34,11 ± 4,95



**Рис. 1.** Структурные формулы сесквитерпеновых лактонов, обнаруженных в растениях рода *Centaurea* (1 – гроссгемин; 2 – репин; 3 – цинаропикрин).

руют явную зависимость противоописторхозной активности наиболее эффективных экстрактивных комплексов CS и CP с наличием в их составе цинаропикрина. Это дает основание считать, что не только данное вещество вносит вклад в целевую активность.

Принимая во внимание близость химического строения содержащихся в экстрактах CS и CP сесквитерпеновых лактонов, возможно, что противоописторхозной активностью обладают все эти соединения. Так, наличие в 40 % этанольном экстракте CS трех сесквитерпеновых лактонов (цинаропикрин, гроссгемин и репин) обуславливает более высокую активность этого образца по сравнению с образцом CP, в котором репин отсутствует, и, соответственно, общее количественное содержание сесквитерпеноидов меньше.

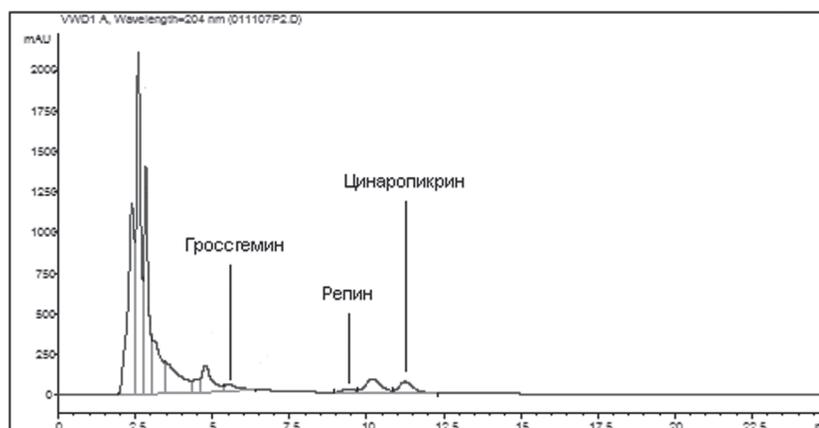
С другой стороны, эффективность изолированного цинаропикрина в эксперименте оказалась значительно ниже эффективности

экстрактивных комплексов CS и CP. Вероятно, это обусловлено комплексным воздействием биологически активных веществ, входящих в состав этих растений, на различные звенья патогенеза описторхоза. Сесквитерпеновые лактоны, в частности цинаропикрин, способны оказывать прямое воздействие на мариит описторхов, в результате которого последние погибают либо их жизнедеятельность значительно нарушается, что приводит к их откреплению от стенок желчных протоков печени. Наряду с сесквитерпеновыми лактонами в состав экстрактов данных растений входят фенольные соединения, полисахариды, каротиноиды, аскорбиновая кислота и др., проявляющие антиоксидантное, гепатопротективное, желчегонное, детоксикационное, противовоспалительное и др. виды активности. Сочетанное воздействие этих групп биологически активных веществ способствует восстановлению функций печени, нарушенных в течение заболевания и увеличению эффективности лечения описторхоза.

В связи с этим, предварительные исследования позволяют считать *Centaurea scabiosa* L., *Centaurea pseudomaculosa* Dobroc., *Centaurea jaceae* L. перспективными для дальнейшего изучения с целью создания новых лекарственных средств для лечения описторхоза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

В результате исследований в условиях *in vivo* установлены высокие показатели противоописторхозной активности экстрактов *Centaurea scabiosa*, *Centaurea pseudomaculosa* и *Centaurea jaceae* на 40 % этаноле (ИЭ – 71,6 %, 69,7 % и 68,11 %, соответственно). Аналогичный экстракт *Centaurea Phrygia* противоопи-



**Рис. 2.** Хроматограмма экстракта *Centaurea scabiosa* на 40 % этаноле (времена удерживания гроссгемина – 5,52 мин., репина – 9,4 мин., цинаропикрина – 11,21 мин.).

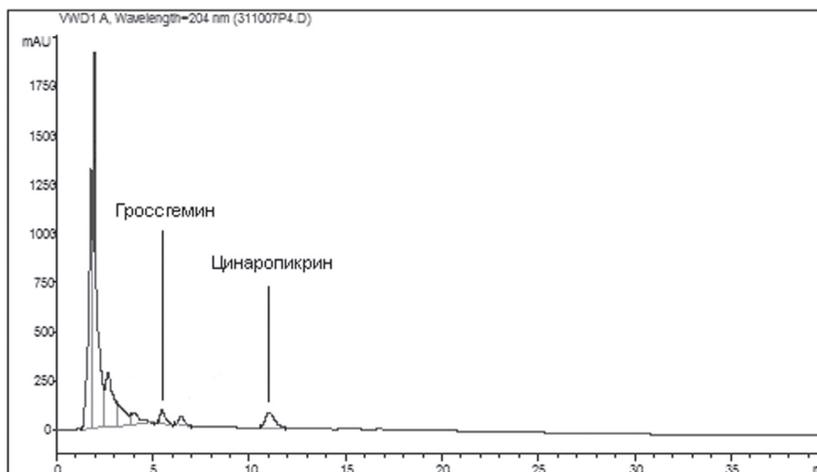


Рис. 3. Хроматограмма экстракта *Centaurea pseudomaculosa* на 40 % этаноле (времена удерживания гроссгемина – 6,08 мин., цинаропикрина – 11,65 мин.).

сторхозной активности не продемонстрировал. Подтверждена ранее описанная в литературе специфическая активность цинаропикрина (ИЭ – 34,11 %) методом ВЭЖХ в наиболее активном экстракте *Centaurea scabiosa* обнаружены сесквитерпеновые лактоны гваянового типа: гроссгемин (0,83 %), репин (0,45 %) и цинаропикрин (1,23 %); в экстракте *Centaurea pseudomaculosa* (40 % этанол) – гроссгемин (0,7 %) и цинаропикрин (1,2 %). Экспериментально обосновано предположение о возможном наличии противоописторхозной активности у других сесквитерпеновых лактонов растений рода *Centaurea*.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Opisthorchis felinus and Metorchis bilis are the main agents of liver fluke infection of humans in Russia / V. Mordvinov [et al.] // Parasit. Int. – 2011. – №61. – P.25–31.
2. P. Olson et al. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) // Int. J. Parasitol. – 2003. – Vol.33. – P.733–755.
3. Огородова Л.М. и др. Описторхоз в РФ. Взгляд на проблему в 21 веке / Науч. ред. Л.М. Огородова, А.Э. Сазонов; М-во здравоохранения РФ, Сиб. гос. мед. ун-т. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2016. – 130 с.
4. Pozio E. et al. Opisthorchis felinus, an emerging infection in Italy and its implication for the European Union // Acta Tropica. – 2013. – №123. – P.54–62.
5. Sripa B. et al. Opisthorchiasis and Opisthorchis-associated cholangiocarcinoma in Thailand and Laos // Acta Tropica. – 2011. – № 120S. – P. S158–S168.
6. Sithithaworn P. et al. The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the Mekong Basin // Parasit. Int. – 2012. – Vol. 61. – Is. 1. – P.10–16.
7. A review of human carcinogens. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. World Health Organization, International Agency for Research

on Cancer IARC Biological agents. – 2012. – Vol. 100 B. – № 100. – 449 P.

8. Gouveia M. et al. Infection with Opisthorchis felinus induces intraepithelial neoplasia of the biliary tract in a rodent model // Carcinogenesis. – 2017. – Vol. 38. – Is. 9. – P.929–937.
9. Sut S. et al. New Drugs from Old Natural Compounds: Scarcely Investigated Sesquiterpenes as New Possible Therapeutic Agents // Curr. Med. Chem. – 2018. – Vol. 25. – №10. – P.1241–1258.
10. Pandey M.M., Rastogi S., Rawat A. K. S. Saussurea costus: botanical, chemical and pharmacological review of an ayurvedic medicinal plant // J. of Ethnopharmacol. – 2007. – №110. – P.379–390.
11. Krasnov E. et al. Isolation of grosheimin from the Siberian population of *Centaurea scabiosa* // Chem. of Nat. Comp. – 2006. – Vol. 42. – №4. – P.495–496.
12. Krasnov E. et al. Isolation of repin from the aerial part of *Centaurea scabiosa* // Chem. of Nat. Comp. – 2011. – Vol.47. – №2. – P.311–312.
13. Kaminskii I. et al. Quantitative HPLC determination of cynaropicrin in *Centaurea Scabiosa* dry extract // Pharm. Chem. J. – 2011. – Vol. 45. – Is. 9. – P.560–563.
14. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общ. ред. д-ра мед. наук А.Н. Миронова. Часть первая. – М.: Гриф и К. – 2012. – С.445–453.
15. Бронштейн М.А., Лучшев В.И. Трематодозы печени: описторхоз, клонорхоз // Русский медицинский журнал – 1998. – Т. 6. – № 3. – С.140–148.

### Адрес автора

Каминский И.П., сотрудник кафедры фармацевтического анализа  
medicff@yandex.ru