

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕРПУХИ ВЕНЦЕНОСНОЙ (SERRATULA TINCTORIA L.) КАК СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В.Я. Яцюк, Л.Е. Сипливая, Г.В. Сипливый, А.В. Кукурека
ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет МЗ РФ (г. Курск)

Prospects for the use of *Serratula tinctoria* L. as a raw material for herbal medicines

V.Ya. Yacuk, L.E. Siplivaya, G.V. Sipliviy, A.V. Kukureka
Kursk State Medical University (Kursk, Russia)

РЕЗЮМЕ

Хроматографическими и спектрофотометрическими методами проведен качественный и количественный анализ пигментов и аминокислот в сырье *Serratula tinctoria* L. В ацетоновом извлечении, полученном методом мацерации, установлено наличие не менее пяти каротиноидов, один из которых идентифицирован как β -каротин. Определен оптимальный режим экстракции липофильных веществ. В водном извлечении определено содержание девяти заменимых и незаменимых аминокислот.

Ключевые слова: каротиноиды, хлорофиллы, аминокислоты, *Serratula tinctoria* L., хроматография, спектрофотометрия.

RESUME

The qualitative and quantitative analysis of pigments and amino acids in raw material of *Serratula tinctoria* L. has been conducted with the use of chromatographic and spectrophotometric methods contained. We have revealed the presence of at least five carotenoids in the acetone extract which was obtained by maceration. One of them was identified by us as β -carotene. The optimal mode of lipophilic substances extraction has been also determined. The content of nine amino acids has been revealed in water extract and their quantitative contents has been established.

Keywords: carotenoids, chlorophylls, amino acids, *Serratula tinctoria* L., chromatography, spectrophotometry.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время современная медицина все чаще обращается к многовековому опыту народной медицины, в частности, к фитотерапии. Однако в результате антропогенной деятельности человека резко сократились запасы многих видов лекарственного растительного сырья. В связи с этим фитохимическое и фармакологическое исследование растительных объектов, образующих значительные запасы, с целью выявления возможности для создания на их основе новых отечественных фитопрепаратов является актуальной задачей [8].

Перспективным источником получения биологически активных веществ являются растения рода Серпуха. Род *Serratula* L. (Серпуха) насчитывает более 20 видов, произрастающих в странах Европы, Азии и Америки [11]. По данным литературы, на территории Центрально-Чернозёмного региона распространены и образуют значительные запасы 4 вида рода *Serratula*

(*S. coronata* L., *S. lycopifolia* A. Kern, *S. radiata* (Waldst. et Kit.) Bieb, *S. tinctoria* L.) [10, 12].

Аналитический обзор данных литературы показал, что наиболее полно изучен химический состав *S. coronata* L. Рядом отечественных и зарубежных авторов установлено наличие в сырье рода *Serratula* L. широкого спектра биологически активных веществ, представленных в основном фитостероидами, сесквитерпеноидами, флавоноидами, высшими жирными кислотами, в некоторых видах обнаружен арбутин [11].

В эксперименте установлено, что спиртовые экстракты плодов, надземной части, содержащие фитостероиды и флавоноиды, обладают адаптогенным, мембранотропным, радиопротективным и другими свойствами. Водно-спиртовый и спиртовый экстракты травы серпухи венценосной (*S. coronata* L.) проявляют противоопухолевую, антибактериальную, антифидантную активность [11].

Растения рода *Serratula* L. не находят широкого применения в народной медицине и не используются в официальной. Причиной этого является малоизученный состав.

В данной работе приводятся результаты исследований химического состава биологически активных веществ первичного обмена, входящих в состав липофильной и гидрофильной фракций (пигментов, аминокислот и т.д.) одного из видов растений рода *Serratula* L. Идентификация и количественное определение этих групп веществ представляет несомненный интерес для оценки перспективности использования растительного сырья с целью создания на их основе лекарственных препаратов различной фармакологической активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами научных исследований служили надземные органы серпухи венценосной *Serratula tinctoria* L., собранные в фазу вегетации: начало цветения, конец цветения – начало плодоношения на территории Курской области.

Хлорофиллы качественно обнаруживали в ацетоновом извлечении, полученном методом мацерации, используя их способность давать красную флуоресценцию под действием ультрафиолета. Каротиноиды определяли в очищенной ацетоновой вытяжке методом восходящей ТСХ и прямым сравнением с достоверными образцами, в системах растворителей: гексан, гексан-диэтиловый эфир (3:5) и гексан-ацетон (9:1). Количество пятен на хроматограммах и их окраску контролировали визуально.

Для получения индивидуальных веществ раствор каротиноидов в эфире хроматографировали на колонке (4 x 30 см) с использованием в качестве сорбента оксида алюминия. Колонку проявляли смесью гексан-диэтиловый эфир (3:7), бензолом и отбирали фракции по 10 мл. Элюаты анализировали методом хроматографии в тонком слое сорбента на пластинках «Силуфол» в системе растворителей: петролейный эфир-бензол-метанол (81:15:4), ацетон-петролейный эфир (9:1), гексан-диэтиловый эфир (3:5). Фракции, имеющие одинаковый состав объединяли, упаривали под вакуумом и анализировали. Идентификацию каротиноидов осуществляли спектрофотометрическим методом по спектрам поглощения, по окраске на адсорбенте и в растворах, по расположению зон на хроматограммах, при хроматографировании смешанных проб выделенных каротиноидов с достоверными образцами [2].

Для количественного определения пигментов использовали спектрофотометрическую методику, позволяющую определять каротиноиды и хлорофиллы при их совместном присутствии [9]. Анализ пигментов выполняли при комнатной температуре на рассеянном свете, так как при сильном освещении может произойти фотоокисление хлорофилла. Для определения содержания пигментов в сырье мелкопестника канадского была изучена зависимость полноты экстракции от следующих технологических факторов: измельченность сырья, кратность экстракции, экстрагент, метод экстракции.

Для качественного обнаружения аминокислот в водном извлечении мелкопестника канадского использовали нингидриновую реакцию. Далее проводили хроматографическое определение аминокислот посредством восходящей ТСХ в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (3:1:1) в сравнении с достоверными образцами с последующим их количественным определением денситометрически. Для этого на хроматографическую пластинку размером 150 x 120 мм «Силуфол» наносили на расстоянии 1 см от края по 0,2 мкг извлечения и такое же количество 0,5 % водных растворов стандартных образцов аминокислот. После прохождения фронтом растворителя расстояния 10 см пластинку извлекали из камеры, просушивали на воздухе. Затем хроматограмму обрабатывали 0,25 % раствором нингидрина в ацетоне, нагревали в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 2–3 минут [6, 7, 13].

Установление количественного содержания аминокислот в исследуемых образцах проводили на автоматическом анализаторе «Amino Acid Analyzer T 339 M». Аминокислотный анализ проведен на колонке «Waters AccQ Tag» размером 3,9 x 150 мм с использованием ступенчатого метода элюирования после гидролиза 6 M раствором хлороводородной кислоты при температуре 110 °С в течение 24 часов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Методом восходящей тонкослойной хроматографии определили наличие не менее пяти веществ, отнесенных по характеру окраски к каротиноидам (табл. 1). Дальнейшую идентификацию проводили спектрофотометрическим методом. Для этого готовили растворы в бензоле, гексане и снимали спектры. После анализа спектров поглощения всех фракций, удалось

Таблица 1

Результаты ТСХ анализа каротиноидов в *Serratula tinctoria* L.

Номер зоны абсорбции на хроматограмме	Величина R _f в системах растворителей		
	гексан-диэтиловый эфир 3:5	гексан	гексан-ацетон 9:1
1	0,09	0,12	0,21
2	0,12	0,30	0,25
3	0,21	0,41	0,39
4	0,81	0,60	0,41
5 (β-каротин)	0,96	–	0,90

идентифицировать β-каротин по следующим максимумам: 437, 475, 4492 нм и 427, 463, 474 нм для бензола и гексана, соответственно. Далее проведен сравнительный анализ полученного соединения по спектрам поглощения с достоверным образцом β-каротина, что позволило определить наличие его в образце. Остальные порции представлены смесью различных каротиноидов и требуют дальнейшего изучения.

Технологический процесс получения фитопрепаратов включает стадию извлечения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья. В процессе экстракции происходит массо-обмен между экстрагентом и раствором веществ в растительной клетке до выравнивания концентраций. Количественный и качественный состав извлечения во многом зависит не только от химического состава биологически активных веществ, но и от химической природы экстрагента, технологической подготовки сырья и способа проведения экстракции [1, 4].

При проведении эксперимента выяснено, что наибольший выход пигментов достигается при использовании в качестве экстрагента смеси гексан-ацетон в соотношении 1:1 (табл. 2).

Из многочисленных способов получения вытяжки нами был выбран метод дробной мацерации, так как он обеспечивает наибольший выход пигментов и, таким образом, позволяет наиболее полно извлекать биологически активные вещества, особенно термолабильные (табл. 3).

В процессе экстракции важную роль играет степень измельчения сырья. Известно, что скорость экстракции в идеальном случае прямо пропорциональна степени измельчения сырья. В действительности практика показала, что порошки высокой степени измельчения для экстракции не используются. В этой связи, в каждом конкретном случае необходимо определить оптимальную степень измельчения сы-

Таблица 2

Влияние экстрагента на содержание пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) в *Serratula tinctoria* L.

Экстрагент	Содержание пигментов* в мг/100 г	
	1	2
Гексан	4,46	3,05
Ацетон	8,05	15,61
Гексан-ацетон (1:1)	14,02	22,12

* – среднее значение пяти определений; 1 – содержание каротиноидов; 2 – содержание хлорофиллов

Таблица 3

Влияние метода экстракции на содержание пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) в *Serratula tinctoria* L.

Метод экстракции	Содержание пигментов* в мг/100 г	
	1	2
Экстракция при нагревании	14,02	22,12
Дробная мацерация	15,06	23,10

* – среднее значение пяти определений; 1 – содержание каротиноидов; 2 – содержание хлорофиллов

Таблица 4

Влияние степени измельчения сырья на содержание пигментов и экстрактивных веществ в *Serratula tinctoria* L.

Степень измельчения, мм	Содержание пигментов* в мг/100 г		Содержание экстрактивных веществ* в %
	1	2	
1	17,02	22,81	5,96
3	10,01	17,46	4,60
5	5,02	12,11	3,21

* – среднее значение пяти определений; 1 – содержание каротиноидов; 2 – содержание хлорофиллов.

рья [3, 5]. Результаты исследования показали, что для получения экстрактов целесообразно использовать растительное сырье, имеющее степень измельчения 1 мм (табл. 4).

Для оценки влияния кратности экстракции на содержание пигментов и экстрактивных веществ была проведена 4-х-ступенчатая экстракция. Полученные результаты свидетельствуют о том, что целесообразно осуществлять трехкратную экстракцию, так как при продолжении процесса не наблюдается увеличения выхода биологически активных веществ (табл. 5).

В гидрофильной фракции было проведено исследование аминокислотного состава. В пробе установлено наличие не менее 18 аминокис-

Таблица 5

Влияние кратности экстракции на содержание пигментов и экстрактивных веществ в *Serratula tinctoria* L.

Степень экстракции	Содержание пигментов*, г/100 г		% извлечения		Содержание экстрактивных веществ*, %
	1	2	1	2	
1	17,01	22,05	41	44	5,57
2	12,01	15,08	32	31	3,82
3	10,08	12,34	22	23	3,21
4	2,05	3,01	7	8	2,08

* – среднее значение пяти определений; 1 – содержание каротиноидов; 2 – содержание хлорофиллов

Таблица 6

Результаты ТСХ анализа свободных аминокислот водного извлечения *Serratula tinctoria* L. в системе растворителей бутанол – уксусная кислота ледяная – вода (3:1:1)

Номер зоны абсорбции	R _f	Аминокислота	Количественное содержание в сырье*, %
1	0,08	аргинин	0,26
2	0,09	гистидин	0,32
3	0,38	аспарагиновая кислота	0,20
4	0,44	серин	0,12
5	0,51	аланин	0,50
6	0,52	треонин	0,10
7	0,55	глутаминовая кислота	0,8
8	0,60	валин	0,6
9	0,62	метионин	0,8

* – среднее значение пяти определений

лот, при этом идентифицировано 9. Установлено, что наибольшее количество составляют: аланин, гистидин, аргинин и аспарагиновая кислота (табл. 6).

В ходе анализа изучены вещества первичного биосинтеза сырья серпухи красильной: пигменты и аминокислоты. Полученные сведения о качественном составе и количественном содержании веществ первичного обмена позволяют предположить перспективность дальнейшего изучения растений рода *Serratula* L. для создания отечественных фитопрепаратов на их основе.

ВЫВОДЫ

1. В липофильном извлечении из сырья *Serratula tinctoria* L. установлено наличие не менее пяти каротиноидов, один из которых идентифицирован как β-каротин.

2. В гидрофильной фракции из сырья *Ser-*

ratula tinctoria L. определено содержание девяти заменимых и незаменимых аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахназарова, С.Л., Кофаров В.В. Методы оптимизации в химической технологии. 2-е изд., перераб. и доп. – М., 1985. – С.327.

2. Ботов А.Ю., Яцюк В.Я., Сипливая Л.Е. Изучение *Erigeron Canadensis* L. как возможного источника получения каротиноидов и хлорофиллов // Международная научная конференция «Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины». – Бангкок, 2010. – С.108–109.

3. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Е.А. Краснов, Т.П. Березовская, Л.А. Демиденко и др. – Томск, 1987. – 184 с.

4. Гогилашвили, Л.М., Хагиашвили Н.С., Явич П.А. Исследование процесса экстракции плодов держидерева // Фармация. – 2000. – №2. – С.24.

5. Завражнов В.И., Китаева Р.И., Хмелев К.Ф. Лекарственные растения: лечебное и профилактическое исследование. – Воронеж: изд. ВГУ, 1993. – 220 с.

6. Киселева Т.Л., Горошко О.А., Чаузова А.В., Прохоренко О.А. Сравнительное хроматографическое изучение аминокислотного состава травы полыни обыкновенной (*Artemisia vulgaris* L.), собранной на территории России и Китая // Сборник научных трудов II-го российского фитотерапевтического съезда. – М., 2010. – С.179–183.

7. Киселёва Т.Л., Люй Годун, Чаузова А.В. Аминокислотный состав травы чернойбыльника (*Artemisia vulgaris* L.) флоры России и Китая // Традиционная медицина. – 2014. – №1(36) – С.49–52.

8. Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственно регулирование номенклатуры и качества. – М.: Издательство Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009. – 295 с.

9. Литвиненко В.И., Талашова С.В., Попова Т.П. Количественное определение каротиноидов и хлорофиллов хладонового экстракта валерианы лекарственной // Состояние и перспективы современного лекарствоведения. Ярославль. – 1997. – С.65–66.

10. Полуянов А.В., Прудников Н.А. Сосудистые растения Курской области: учебное пособие. – Курск: КГУ, 2005. – 67 с.

11. Растительные ресурсы России. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2012. – Т.5, Ч. 1. – С.150–152.

12. Флора средней полосы европейской части России / П.Ф. Маевский. – М., 2006. – 514 с.

13. Яцюк В.Я., Елецкая О.А. Анализ состава веществ первичного синтеза растительного сбора // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2009. – №3. – С.146–150.

Адрес автора

Д.фарм.н., проф. Сипливая Л.Е., зав. кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ГБОУ ВПО КГМУ farmchim@rambler.ru