

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ИЗ ТРАВЫ И ЦВЕТКОВ СЕРПУХИ КРАСИЛЬНОЙ *SERRATULA TINCTORIA* L.

В.Я. Яцюк¹, Л.Е. Сипливая¹, Т.Л. Киселева², Г.В. Сипливый¹, В.Ю. Ипатов¹, А.В. Кукурека¹

¹Курский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Курск),

²Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (г. Москва)

A study of the chemical composition and biological activity of the lipophilic fraction of *Serratula tinctoria* L. herb and flowers

V.Ya. Yatsuk¹, L.E. Siplivaya¹, T.L. Kiseleva², G.V. Sipliviyi¹, V.Yu. Ipatov¹, A.V. Kukureka¹

¹Kursk State Medical University Ministry of Health of Russia (Kursk, Russia),

²Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology (Moscow, Russia)

РЕЗЮМЕ

Проведен хромато-масс-спектрометрический анализ липофильной фракции сырья травы и цветков *Serratula tinctoria* L. В цветках идентифицировано 55, в траве – 51 соединение, принадлежащее к различным классам биологически активных веществ (жирных кислот, стероидов, спиртов, тяжелых терпеноидов). Одновременно в обеих морфологических группах сырья обнаружено и идентифицировано 48 соединений. Примеси сахаров, аминокислот и части артефактов исключаются.

Фармакологические исследования показали, что липофильный комплекс, выделенный из сырья *Serratula tinctoria* L., проявляет анальгетическую и противовоспалительную активность, усиливает противомикробную активность гентамицина при токсическом поражении почек в сочетании со стафилококковой инфекцией.

Ключевые слова: липофильная фракция, хромато-масс-спектрометрия, серпуха красильная, *Serratula tinctoria* L.

RESUME

A chromatographic-spectrometric analysis of the lipophilic fraction of the raw material of grass and flowers of *Serratula tinctoria* L. 55 flowers were identified in the flowers, 51 compounds belonging to different classes of biologically active substances (fatty acids, sterols, alcohols, heavy terpenoids) in the grass. At the same time 48 compounds were detected and identified in both morphological groups of the raw material. The impurities of sugars, amino acids and parts of artifacts were excluded.

Pharmacological studies have shown that the lipophilic complex isolated from *Serratula tinctoria* L. raw material shows analgesic, anti-inflammatory activity, enhances the antimicrobial activity of gentamicin in toxic kidney damage in combination with staphylococcal infection.

Keywords: Lipophilic fraction, chromatography-mass spectrometry, saw-wort (sawwort), *Serratula tinctoria* L.

ВВЕДЕНИЕ

Поиск перспективных отечественных источников лекарственного растительного сырья, разработка и внедрение новых лекарственных препаратов растительного происхождения входят в число приоритетных направлений отечественной медико-фармацевтической науки.

Необходимость расширения ассортимента отечественных растительных препаратов обусловлена, в том числе их меньшей токсичностью при достаточно высокой эффективности [3]. Настоящая работа является логическим продолжением серии исследований химичес-

кого состава серпухи красильной – *Serratula tinctoria* L. (сем. Asteraceae), образующей достаточные запасы для промышленной заготовки на территории Центрально-Черноземного региона [6].

Ранее нами проведено изучение некоторых представителей рода *Serratula* L. на наличие веществ первичного и вторичного синтеза и установлено, что водорастворимый полисахаридный комплекс и комплекс пектиновых веществ (ПВ) листьев и цветков *Serratula tinctoria* L. имеют аналогичный состав, но отличаются количественным содержанием отдельных компонентов. Моносахаридный состав

водорастворимого полисахаридного комплекса и комплекса ПВ представлен глюкозой, галактозой, ксилозой, арабинозой, рамнозой и фруктозой. При этом максимальное количество глюкозы и минимальное количество рамнозы выявлено в водорастворимом полисахаридном комплексе листьев и соцветий серпухи красильной. В комплексе ПВ, напротив, доминирует рамноза, и в меньшем количестве выявляется галактоза [10].

Методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и тонкослойной хроматографии (ТСХ) в спиртовом извлечении травы *Serratula tinctoria* L. ранее нами выявлено наличие 22 веществ полифенольной природы (флавоноиды, кумарины, фенолкарбоновые кислоты). С помощью методики дифференциальной спектрофотометрии определено количественно содержание суммы флавоноидов – $3,1 \pm 0,5 \%$ [9].

Целью настоящей работы является изучение химического состава и некоторых видов фармакологической активности нативного комплекса веществ первичного биосинтеза, переходящих в липофильную фракцию из цветков и травы *Serratula tinctoria* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили наземные органы (трава, цветки) серпухи красильной, собранные в фазу вегетации «конец цветения – начало плодоношения» (максимальный выход сырья) на территории Курской и Белгородской областей. Собранное сырье подвергали воздушной сушке в естественных условиях при температуре 25°C без доступа прямых солнечных лучей.

Липофильную фракцию для определения химического состава с помощью хромато-масс-спектрометрического метода анализа получали методом мацерации в течение 24 часов (экстрагент – диэтиловый эфир, гидромодуль – 1:10). Полученные извлечения фильтровали, упаривали под вакуумом досуха. Сухие экстракты (3–5 мг – точные навески) обрабатывали 0,4 мл 1 М раствора соляной кислоты в метаноле при 80°C в течение 180 минут (кислый метанолиз). Образовавшиеся при метанолизе метиловые эфиры жирных кислот и другие липидные компоненты экстрагировали гексаном. Гексан упаривали, а сухой остаток силилировали в 20 мкл БСТФА (бис-(триметилсилил) трифторацетамид) в течение 15 мин. при 80°C

и разбавляли гексаном до 10 мкл. Для анализа 1 мкл смеси вводили в инжектор системы хромато-масс-спектрометра, работающего в автоматическом режиме [7].

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили на хромато-масс-спектрометре АТ-5850/5973 Agilent Technologies (США). Масс-спектрометр квадрупольный с диапазоном масс 2–950 а.е.м. имеет разрешающую способность 0,5 а.е.м. во всем рабочем диапазоне. Ионизация электронами 70 эВ. Чувствительность прибора составляет 0,01 нг по метилстеарату.

Для хроматографического разделения проб использовали колонку из плавленого кварца длиной 25 м и внутренним диаметром 0,25 мм. Неподвижная фаза НР-5ms Хьюлетт-Паккард с толщиной слоя 0,2 мкс. Хроматографирование проводили в режиме программирования температуры от 135 до 320°C со скоростью 7 град/мин. Температура инжектора и интерфейса 280°C . Обработку данных проводили с помощью штатных программ прибора. Вещества в хроматографических пиках идентифицировали с помощью библиотечных программ с базой данных масс-спектров NIST.

Для фармакологических исследований и оптимизации дозирования полученные липофильные извлечения упаривали до консистенции густых экстрактов. Стандартизацию липофильного экстракта проводили по содержанию пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) спектрофотометрической методикой, которая позволяет определить их при совместном присутствии [10].

Изучение биологической активности проводили на крысах и мышах по 6 животных в каждой серии, согласно целям опыта.

Острую токсичность липофильного комплекса определяли на здоровых животных по методике Б.М. Штабского [8]. Исследование анальгетической активности проводили на мышках с использованием модели «уксусных корчей» и модели формалиновой болевой реакции [2]. Модель микробной компрометации организма с вовлечением в патологический процесс почек создавали путем внутрижелудочного введения ртути дихлорида в дозе 2 мг/кг и внутрибрюшинной инъекции предварительно оттитрованных доз суточной агаровой культуры *Staphylococcus aureus*, содержащих 1×10^8 микробных тел в 0,5 мл раствора [1, 2, 4].

Для получения достоверных данных крысы были разделены на 4 группы по 9 животных: контрольная группа (интактные здоровые

Таблица 1

Результаты исследования состава липофильной фракции травы и цветков *Serratula tinctoria* L. методом хромато-масс-спектрометрии

Но- мер пики	Время удержива- ния, мин.	Вещество	Состав от суммы, %	
			травы	цветки
1	6,698	Лауриновая кислота	0,580	0,666
2	7,093	Азеалиовая	–	0,232
3	7,169	Элемицин (триметоксиаллилбензол)	–	0,523
4	9,576	Миристиновая	1,300	1,944
5	10,445	Изо-пентадекановая	0,072	0,221
6	10,520	Антеизо-пентадекановая	1,230	1,130
7	11,006	Пентадекановая	0,507	0,422
8	11,230	Гексагидрофарнезол-ацетон	0,727	0,917
9	11,802	Изо-гексадекановая	0,306	0,127
10	12,154	Гексадеценон	1,782	2,380
11	12,257	Гексадекановая	8,875	10,621
12	12,359	3-гидрокси-миристиновая	1,230	0,178
13	13,215	Изо-гептадекановая	0,587	0,356
14	13,496	Азеито-гептадекановая	0,366	0,385
15	13,621	Циклопропан-гептадекановая	1,253	1,192
16	13,687	Гептрадекановая	1,652	0,809
17	14,689	Линолевая	7,043	13,216
18	14,738	Олеиновая	6,980	6,957
19	15,023	Стеариновая	3,714	4,121
20	15,182	2-гидрокси-пальмитиновая	0,084	1,203
21	15,495	Октадеканол	0,309	0,295
22	16,933	Октадекатриеновая, конюгированная	–	0,279
23	17,031	Октадекатриеновая, конюгированная	–	0,387
24	17,266	Н-триэйкозан	1,798	0,954
25	17,265	Эйкозеновая кислота	–	0,248
26	17,634	Эйкозановая кислота	1,669	2,955
27	17,925	Эйкозанол	1,833	1,785
28	18,462	Н-пентакозан	0,508	0,486
29	18,710	Генэйкозановая кислота	0,578	0,446
30	18,901	Генэйкозанол	–	0,258
31	19,532	Н-гексакозан	4,233	3,095
32	19,974	Докозановая кислота	2,907	1,532
33	20,295	Докозанол	2,808	3,013
34	20,710	Н-гептакозан	0,469	0,896
35	20,970	Трикозановая кислота	0,990	0,700
36	21,272	Трикозанол	1,580	0,505
37	21,704	Н-октакозан	5,727	5,333
38	21,827	Тетракозановая кислота	–	1,292
39	21,907	2-гидрокси-докозановая кислота	2,279	2,257
40	22,152	Тетракозановая кислота	6,205	4,752
41	22,215	Тетракозанол	6,965	4,007
42	22,828	Н-нонакозан	0,740	0,750
43	22,929	2-гидрокси-трикозановая кислота	0,742	0,680
44	23,175	Пентакозановая кислота	0,705	0,629
45	23,303	Пентакозанол	0,620	0,408
46	23,850	Н-триаконтан	9,336	7,800
47	23,918	2-гидрокси-тетракозановая кислота	5,287	–
48	24,077	Гексакозановая кислота	2,481	2,983
49	24,279	Гексакозанол	2,495	1,875
50	24,705	Н-гептакозан	3,009	–
51	24,945	2-гидрокси-пентакозановая кислота	1,454	1,458
52	25,042	Гептакозановая кислота	–	1,520
53	25,665	Н-дотриаконтан	9,074	6,360
54	25,823	2-гидрокси-гексакозановая кислота	1,840	–
55	25,976	Октакозановая кислота	2,516	2,930
56	27,776	Эргостерол	1,072	0,740
57	27,898	Стигмастерол	2,933	4,210
58	28,709	Ситостерол	8,975	9,416
59	29,503	Ланостадиенол	2,909	3,451

крысы), вторая группа животных с нарушением выделительной активности почек в условиях стафилококковой инфекции (опытная группа), третья группа опытных крыс, получавших только гентамицин, и четвертая группа опытных животных, получавших гентамицин и липофильный комплекс. Введение гентамицина и биологически активного комплекса осуществляли внутримышечно, однократно в течение 5 дней, гентамицин в дозе 4 мг/кг и липофильный экстракт – 3 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали гентамицин в дозе 4 мг/кг. Выделительную функцию почек оценивали по величине мочевины и креатинина в крови [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного хромато-масс-спектрометрического анализа в составе липофильной фракции травы серпухи красильной установлено наличие не менее 59 компонентов (табл. 1). В цветках серпухи красильной удалось идентифицировать 55, в траве – 51 соединение, относящиеся к классам жирных кислот, стероидов, спиртов, тяжелых терпеноидов. При этом одновременно в обеих исследуемых морфологических группах сырья присутствует только 48 соединений (табл. 1).

При определении токсичности липофильного извлечения из цветков и травы серпухи красильной удалось установить, что в исследуемых дозах экстракт не является токсичным. Изучение фармакологической активности показало, что липофильный экстракт обладает высокой анальгетической активностью при кининовой болевой реакции подавляет болевое реагирование на 55 % ($p < 0,01$); антиноцицептивной активностью в отношении центрального компонента формирования боли и снижает чувствительность болевых рецепторов к действию медиаторов воспаления на 40 % ($p < 0,01$); противовоспалительным действием

Таблица 2

Изменение выделительной активности почек у крыс при введении гентамицина и липофильной фракции травы и цветков *Serratula tinctoria* L.

Группа	Креатинин, ммоль/л	Мочевина, ммоль/л
1. Контроль (здоровые крысы)	10,9 ± 1,1	141,2 ± 14,8
2. Крысы с нарушением выделительной функции почек и введение стафилококка	19,8 ± 2,4*1	237,4 ± 21,9*1
3. Крысы с нарушением выделительной функции почек в условиях стафилококка, получавшие гентамицин	15,2 ± 1,4*1,2	201,2 ± 20,3*1,2
4. Крысы с нарушением выделительной функции почек, получавшие гентамицин и липофильную фракцию	12,3 ± 1,0*2,2	156,8 ± 15,6*2,3

Примечание. * и цифра рядом указывают на достоверность различий между группами ($p \leq 0,05$).

на модели острого асептического воспаления, снижая интенсивность отека на 41,3 %.

Установлено, что липофильный экстракт, введенный с гентамицином, ускоряет нормализацию выделительной активности почек при введении стафилококка (табл. 2).

ВЫВОДЫ

1. Методом хромато-масс-спектрометрии изучен химический состав липофильной фракции травы и цветков серпухи красильной. В цветках идентифицировано 55, в траве – 51 соединение, принадлежащие к различным классам биологически активных веществ. Одновременно в обеих морфологических группах сырья обнаружено и идентифицировано 48 соединений.

2. Экспериментально доказано, что липофильный экстракт из сырья серпухи красильной значительно увеличивает противовоспалительное действие гентамицина, о чём свидетельствует снижение уровней креатинина и мочевины в крови экспериментальных животных.

3. Полученные результаты позволяют считать целесообразным дальнейшее изучение липофильной фракции серпухи красильной с целью создания отечественных растительных препаратов с заданной фармакотерапевтической активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев В.А., Ласкова И.Л. О механизме развития иммуносупрессии при острой почечной недостаточности // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1997. – №3. – С.31–35.
2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
3. Гольщенко П.П. Лекарственные растения и их использование. – Саранск: Мордовское книжное изд-во, 1996. – С.291

4. Есилевский Ю.М. Патогенез пиелонефрита. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 368 с.

5. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.

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

7. Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. Хромато-масс-спектрометрия. – М.: Химия, 1984. – С.150–178.

8. Штабский Б.М. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ // Гигиена и санитария. – 1980. – №10. – С.49–61.

9. Яцюк В.Я., Сипливый Г.В., Сипливая Л.Е. и др. Исследование полифенольного состава серпухи красильной (*Serratula tinctoria* L.) // Традиционная медицина. – 2015. – №2, Т.41. – С.22–24.

10. Яцюк В.Я., Сипливый Г.В., Сипливая Л.Е. и др. Перспективы использования серпухи венценосной (*Serratula tinctoria* L.) как сырья для получения растительных препаратов // Традиционная медицина. – 2014. – №3, Т.38. – С.18–21.

Адрес автора

Д.б.н. Сипливая Л.Е., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России.

farmchim@rambler.ru