

Химико-фармакологическое исследование видов растений рода *Saussurea*

Нурмухаметова К.А.¹, Краснов Е.А.¹, Бычкова Н.К.¹, Хоружая Т.Г.¹, Дудко В.В.¹, Адекенов С.М.², Драб А.И.², Мартынова Е.Н.²

Pharmacochemical investigation of species of *Saussurea* herbal plants

Nurmukhametova K.A., Krasnov Ye.A., Bychkova N.K., Khoruzhaya T.G., Dudko V.V., Adekenov S.M., Drab A.I., Martynova Ye.N.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² Институт фитохимии Министерства образования и науки Республики Казахстан, г. Караганда

© Нурмухаметова К.А., Краснов Е.А., Бычкова Н.К. и др.

В статье рассматриваются пути поиска противопаразитарных средств растительного происхождения для альтернативного лечения распространенных заболеваний: лямблиоза и описторхоза.

Ключевые слова: лекарственные растения, лямблиоз, описторхоз.

The ways of searching of herbal antiparasitic means for the alternative treatment of the prevailing diseases – lambliaosis and opisthorchosis – have been examined.

Key words: herbal plant, lambliaosis, opisthorchosis.

УДК 615.281.8:615.322

Введение

Лечение паразитарных заболеваний желчевыводящей системы, к числу которых относится описторхоз, является актуальной проблемой. Наиболее напряженный эндемический очаг данной патологии находится в Сибири, наблюдается ее рост и в других регионах России [2]. Для лечения описторхоза применяются синтетические препараты празиквантел (билтрицид, азинокс), хлорсил, имеющие ряд побочных действий и противопоказаний. Поэтому поиск лекарственных средств растительного происхождения, обладающих по сравнению с синтетическими более низкой токсичностью, более мягким действием, редким индуцированием аллергических реакций и возможностью проведения повторных и длительных курсов лечения и профилактики, представляет значительный научно-практический интерес.

Среди огромного разнообразия лекарственных растений особого внимания заслуживает род

соссюреи, ряд видов которого широко используется в народной медицине для лечения заболеваний печени, почек, желудочно-кишечного тракта, а также при диарее, экземе и др. [6].

Проведенные фармакологические исследования в Томском медицинском институте В.Е. Федотовой под руководством профессора А.С. Саратикова [7] обнаружили выраженное противоямблиозное действие 70%-го этанольного экстракта соссюреи иволистной. Высокая активность в сочетании с низкой токсичностью послужили основанием для его применения в лечении больных лямблиозом.

При лечении отмечалось общее улучшение состояния больного, уменьшались или полностью исчезали боли в области печени и желчного пузыря. Печень уменьшалась до нормальных размеров, снижалась температура тела до нормы, улучшались показатели крови. Препарат также

хорошо переносился детьми, при этом не наблюдалось побочных эффектов [7].

Однако отсутствие сведений о биологически активных веществах (БАВ), обуславливающих специфическую активность, и неразработанность вопросов стандартизации препарата не позволили внедрить его в медицинскую практику. Кроме того, несмотря на широкое применение в народной медицине, растения рода *Saussurea* химически мало изучены.

Цель работы — химико-фармакологическое исследование видов растений рода *Saussurea* как источников противопаразитарного фитопрепарата.

Материал и методы

Сырьем для исследования служили надземные части растений, собранные в фазу массового цветения в Кош-Агачском районе Республики Алтай, Ширинском районе Красноярского края, в окрестностях г. Абазы (Хакасия), в Алма-Атинской и Карагандинской областях Республики Казахстан.

Для изучения были выбраны следующие таксономически близкие виды: *Saussurea salicifolia* (L.) DC., *Saussurea горькая* — *Saussurea amara* (L.) DC., *Saussurea солончковая* — *Saussurea salsa* (Pall.) Spreng. Это многолетние травянистые растения высотой до 60—80 см, произрастающие в горных и равнинных степях, на скалах, щебнистых склонах, зачастую образуя смешанные заросли [6].

Состав биологически активных веществ, содержащихся в исследуемых объектах, изучали с помощью современных методов и приемов фитохимического анализа. Для разделения сложных смесей веществ и выделения индивидуальных соединений (сесквитерпеновых лактонов, фенолокислот, флавоноидов, кумаринов) применяли методы избирательной жидкостной экстракции, адсорбционной колоночной хроматографии на силикагеле, хроматографии на бумаге и тонком слое.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 5.0. Результаты представлены как $M \pm m$, где M — среднестатистическое значение, m — ошибка

среднего. Для сравнения величин двух групп с нормальным распределением применялся критерий Стьюдента. В случае ненормального распределения значений использовались критерии Манна—Уитни и Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

ИК-спектры получены на спектрометре UR-75 (Германия); электронные спектры соединений в УФ- и видимой областях снимали на приборе СФ-46 (СССР), на саморегистрирующем спектрофотометре «Specord UV-VIS» (Германия), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводили на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром» («Обь-4»), масс-спектры высокого разрешения (ЭУ, 70 эВ) получали на приборе «Finnigan MAT-8200» (США), спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) записывали на спектрометре «Bruker DRX-500» (Германия).

Жидкие экстракты получали методом реперколяции по Н.А. Чулкову, а из них после удаления этанола под вакуумом сухие экстракты получали методами сублимационной (НПО «Вирион», г. Томск) и конвективной сушки (на базе ICN «Томскхимфарм»).

Исследования противоописторхозного и противоямблиозного действия экстрактов проводили в Тюменском НИИ краевой инфекционной патологии, а оценку их общей токсичности, аллергенности и иммунотоксичности — в лаборатории биомоделирования ТНЦ СО РАМН (г. Томск).

Предварительная оценка описторхозидности произведена в опыте *in vitro* по методу А.И. Кротова [4]. В качестве критерия эффективности противоописторхозного действия препарата *in vitro* было принято проникновение вещества через кутикулу в тело описторха с полным нарушением структуры гельминта и гибелью марит в испытываемых растворах.

Противоописторхозную активность устанавливали на модели хронического описторхоза, для чего использовали золотистых хомячков, искусственно зараженных метацеркариями описторхов. Получение и культивирование описторхов проводили по методу Г.В. Кандинского [3].

Результаты и обсуждение

В надземной части соссюреи иволистной установлено содержание следующих групп соединений: сесквитерпеновые лактоны (цинаропикрин, янерин, репин) — $(2,5 \pm 0,3)\%$; дубильные вещества — $(2,03 \pm 0,10)\%$; эфирные масла — $(0,030 \pm 0,005)\%$; флавоноиды (кверцетин, апигенин, гиперозид) — $(0,72 \pm 0,03)\%$; кумарины (умбеллиферон, эскулетин) — $(0,18 \pm 0,04)\%$.

Исследования противоописторхозной активности ряда растительных экстрактов *in vitro* показали, что сухой экстракт соссюреи иволистной обладает выраженной описторхоцидностью.

Оценку эффективности противописторхозного действия испытуемых образцов *in vivo* определяли на золотистых хомячках ($n = 90$) массой 120—150 г.

Сухие экстракты соссюреи иволистной вводили животным в виде суспензии на 1%-м растворе крахмальной слизи внутрижелудочно через металлический зонд.

Были проведены три серии опытов, с помощью которых выявлен оптимальный экстрагент (экстракты на 70, 40, 95%-м этаноле и водный), апробированы одноразовые и курсовые дозы и схемы лечения препаратом (1 раз в день в течение трех дней). Для каждого объекта исследования были использованы от трех до шести подопытных животных.

С целью сравнения проводили опыты *in vivo* с синтетическими противоописторхозными средствами: хлосилом (0,15 г/кг) и азиноksom (0,1 г/кг).

Интенс-эффективность (ИЭ) препаратов в процентах рассчитывали по формуле

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

где K — количество описторхов у животных контрольной группы ($n = 30$); O — количество описторхов у пролеченных животных.

Наибольшую активность проявил сухой экстракт соссюреи иволистной по 1,5 г/кг, полученный на 70%-м этаноле, при однократном введении в течение трех дней, ИЭ которого составила 65%.

Для выявления противолямблиозной активности в лаборатории биомоделирования ТНЦ СО РАМН была разработана экспериментальная модель лямблиоза.

В качестве экспериментальных животных были использованы беспородные и линейные белые мыши. Искусственное заражение мышей взвесью лямблий путем интрагастрального введения через металлический зонд приводило к гибели всех подопытных животных вследствие травматизации органов желудочно-кишечного тракта, поэтому использовали спонтанное заражение экспериментальных животных. При исследовании фекалий цисты лямблий были выявлены у мышей линий СЗН, DBA, С57В1/6, СС/57W, в связи с чем 100 мышей весом 20—22 г этих линий были использованы в качестве экспериментальной модели лямблиоза.

Сухой экстракт соссюреи иволистной, полученный на 70%-м этаноле, вводили животным *per os* в дозах 0,04 и 0,08 г/кг массы 1 раз в день в течение трех дней. Паразитологический контроль проводился через 10 дней после лечения, при этом эффективность составила 100% для обеих доз.

Оценку острой токсичности и определение LD_{50} проводили на 60 беспородных белых мышах с массой тела 20—22 г. Животным однократно внутрижелудочно вводили сухой экстракт в дозах 100; 350 мг/кг; 3,5 и 15 г/кг. Ни одна из доз не вызвала гибели животных, поэтому LD_{50} превышает 15 г/кг массы животного. Следовательно, экстракт соссюреи иволистной обладает низкой токсичностью, в связи с чем отнесен к классу IV — «Вещества малоопасные».

В результате проведенных фармакологических исследований выявлен выраженный противолямблиозный и противоописторхозный эффект 70%-го этанольного экстракта соссюреи иволистной. Кроме того, у него не обнаружены аллергизирующие и иммунотоксические свойства, напротив, в эксперименте отмечено наличие иммуностимулирующих свойств [1].

С целью выявления биологически активных веществ, обуславливающих специфическую активность, было проведено поэтапное экстрагирование рядом органических растворителей (хлороформ, этилацетат, бутанол) водного остатка, полученного после удаления этанола из 70%-го этанольного экстракта. Фракции, высушенные до сухого остатка, исследовали с по-

мощью хроматографических методов. При этом выявили, что сесквитерпеновые лактоны и кумарины перешли в хлороформное, а сумма полифенольных соединений — в этилацетатное и бутанольное извлечения. Каждая из фракций была исследована на противопаразитарную активность *in vitro*. Исследования показали, что активность фракции, содержащей сумму сесквитерпеновых лактонов, превышает остальные почти в 4—5 раз. Поэтому мы сочли целесообразным проводить стандартизацию лекарственного сырья и фитопрепарата по этой группе соединений. Нами разработана методика определения подлинности сесквитерпеновых лактонов методом хроматографии на тонком слое сорбента и их количественное определение титриметрическим методом. Метод основан на разрыве лактонного кольца и гидролизе сложноэфирной связи в молекулах природных гвайанолидов под воздействием раствора натрия гидроксида.

Проведен сравнительный химический анализ трех видов *соссюреи* — иволистной, солончаковой и горькой — на содержание биологически активных веществ, в результате которого установлен их близкий состав. С помощью колоночной хроматографии на силикагеле из *соссюреи* иволистной выделены и идентифицированы сесквитерпеновые лактоны — репин, янерин, цинаропикрин; флавоноиды — кверцетин, гиперозид, апигенин; кумарины — умбеллиферон, скополетин, эскулетин; из *соссюреи* горькой — сесквитерпеновые лактоны цинаропикрин и цебеллин.

Однако из указанных видов *соссюреи* иволистная является наиболее перспективным источником противопаразитарного средства, так как при исследовании на противопаразитарную активность *in vitro* 70%-й этанольный экстракт *соссюреи* солончаковой обнаружил более низкую активность, а *соссюреи* горькой при наличии противопаразитарной активности проявил значительную токсичность ($LD_{50} = 3,5 \text{ г/кг}$) [5].

Выводы

Изучена противоямблиозная и противоописторхозная активность 70%-го этанольного экстракта растений рода *соссюреи* и впервые установлена специфическая активность суммы сесквитерпеновых лактонов.

Установлена низкая токсичность 70%-го этанольного экстракта *соссюреи* иволистной — LD_{50} выше 15 г/кг — при отсутствии аллергизирующих и иммунотоксических свойств.

Разработана стандартизация сырья травы *соссюреи* иволистной и жидкого экстракта на ее основе по качественному и количественному содержанию суммы сесквитерпеновых лактонов.

Обоснована возможность использования *соссюреи* иволистной в качестве противопаразитарного средства для лечения лямблиоза, описторхоза и микст-инвазий.

Литература

1. Бычкова Н.К., Краснов Е.А., Нурмухаметова К.А. и др. Фармакологические исследования *соссюреи* иволистной // Разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фарм. деятельности: Тезисы докл. междунар. конф. Томск, 2000. С. 132—133.
2. Завойкин В.Д., Зея О.П., Сокерина О.А. Современное состояние проблемы описторхоза в Западной Сибири // Материалы I Междунар. конф. «Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии». Томск, 2001. С. 99.
3. Кандинский Г.В. Методы работы с живыми маридами половозрелых описторхов // Методы исследования при описторхозе: Сб. научн. трудов. Омск, 1986. С. 119.
4. Кротов А.И. Методы изыскания и изучения механизма действия антигельминтов в условиях *in vitro* // Основы экспериментальной терапии гельминтозов. М.: Медицина, 1973. С. 190—200.
5. Нурмухаметова К.А. Исследование некоторых видов *соссюреи* как источника противопаразитарного средства. Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пермь, 2000. 23 с.
6. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. СПб.: Наука, 1993. С. 165—170.
7. Саратиков А.С., Федотова В.Е. Экстракт голубушки как противоямблиозное средство // Аптечное дело. 1962. < 3. С. 26—28.

Поступила в редакцию 02.03.2004 г.

