

УДК 615.451.1

СКОРЗОНЕРА ПУРПУРОВА - ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ В МЕДИЦИНІ

Стадницька Н.Є.¹, Павлюк І.В.¹, Думич І.І.¹, Оверко Н.Г.², Лисак О.В.³,
Корсак І.І.³, Новіков В.П.¹

¹Національний університет „Львівська політехніка”, кафедра технологій біологічно активних сполук, фармації та біотехнологій м. Львів, Україна

²Корпорація «Артеріум», АТ «Галичфарм» м. Львів, Україна

³ТЗОВ ТЕХАРМ м. Львів, Україна

E-mail: vnovikov@polynet.lviv.ua

З метою вивчення спектру фармакологічної дії *Scorzonera purpurea* було проведено аналіз даних літературних джерел, визначено компонентний складу методом ВЕРХ, досліджено чутливість мікроорганізмів до дії водно-спиртової настоянки *S.purpurea* та проведено комп'ютерний скринінг біологічної активності діючих речовин за програмою PASS. В досліджуваному екстракті ідентифіковано хлорогенову, кофеїнову, ферулову, розмаринову кислоти, лютеолін, кверцетин, апігенін, апігенін-7-глікозид, рутин. Виявлено антимікробну активність досліджуваної настоянки до різних штамів *Staphylococcus aureus*. Одержані результати свідчать про доцільність подальшого дослідження скорзонери пурпурової як сировини для одержання фітопрепаратів з антиоксидантною та антимікробною дією.

Ключові слова: настоянка скорзонери пурпурової, метод ВЕРХ, антибактеріальна активність, комп'ютерний скринінг.

ВСТУП

Сучасний фармацевтичний ринок пропонує великий асортимент синтетичних лікарських засобів, але їх використання в багатьох випадках призводить до розвитку резистентності мікроорганізмів до них, а також часто супроводжується побічною дією на організм людини, зокрема, появою алергічних реакцій. Цих негативних моментів можна уникнути, використовуючи рослинні препарати. Підвищений попит на лікарські засоби природного походження призводить до пошуку нових рослин із певним спектром фармакологічної дії. Малодослідженою у фармакологічному та фармакогностичному плані є представник родини складноцвітих скорзонера пурпурова (*Scorzonera purpurea* L.). Рослини цієї родини є джерелами різних флавоноїдів, які, в свою чергу, виявляють антиоксидантні та антимікробні властивості. Відомо, що антиоксиданти відіграють важливу роль в процесі вільно-радикальних перетворень в організмі, тому дослідження та пошук джерел їх одержання є актуальним. Найбільш перспективними джерелами антиоксидантів вважаються рослинні об'єкти, які одночасно містять біологічно активні речовини (БАР) із широким спектром протимікробної дії.

Грунтовний огляд літературних джерел, щодо хімічного складу та застосування надземної та підземної частин рослин представників роду *Scorzonera*, показав, що

інформація стосовно *Scorzonera purpurea* обмежується даними про застосування її надземної частини в народній медицині, як ранозагоюючого засобу. Є дані про високу антимікробну активність до мультирезистентних штамів мікроорганізмів та хімічного складу етанольного екстракту з надземної частини *Scorzonera sandrasica* [1]. Зустрічається інформація щодо проведених досліджень компонентного складу метанол-водного екстракту надземної частини *Scorzonera cinerea*, *Scorzonera incisa*, *Scorzonera latifolia*, *Scorzonera mollis* ssp. *szowitsii*, *Scorzonera parviflora*, and *Scorzonera tomentosa*, де методом ВЕРХ з використанням таких стандартних зразків: хлорогенова кислота, кавова кислота, ферулова кислота, кумарова кислота, рутин, гіперозид, лютеолін-7-глюкозид, гесперидин, розмаринова кислота, кверцетин, лютеолін, апігенін, виявлено хлорогенову кислоту, гіперозид та лютеолін-7-глюкозид. Також представлено результати щодо високої протизапальної та ранозагоюючої активності *Scorzonera latifolia* та *Scorzonera mollis* sp. *szowitsii* порівняно з екстрактами інших представників цього класу [2].

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Вихідною сировиною для досліджень нами була використана висушена при нормальних умовах (в темному місці, температурі 20–25°C, відносній волозі 30–60%) трава скорзонери пурпурової зібрана в період цвітіння в місяці липні в Карпатському регіоні: Львівській області селі Славську. Досліджувану сировину використовували для одержання спиртово-водного витягу методом мацерації.

Склад одержаної настоянки ідентифікували методом високоефективної рідинної хроматографії на приладі Agilent 1200 з діодно-матричним детектором. Хроматографування проводилось на колонці, заповненій октадецилсилільним сорбентом C₁₈ з розміром частинок 5 мкм [3]. Рухома фаза: ацетонітрил–буфер фосфатнокислий рН 2,8 із градієнтом ацетонітрилу від 10% до 50% об. Для їх ідентифікації використовували розчини стандартних зразків (рис. 1).

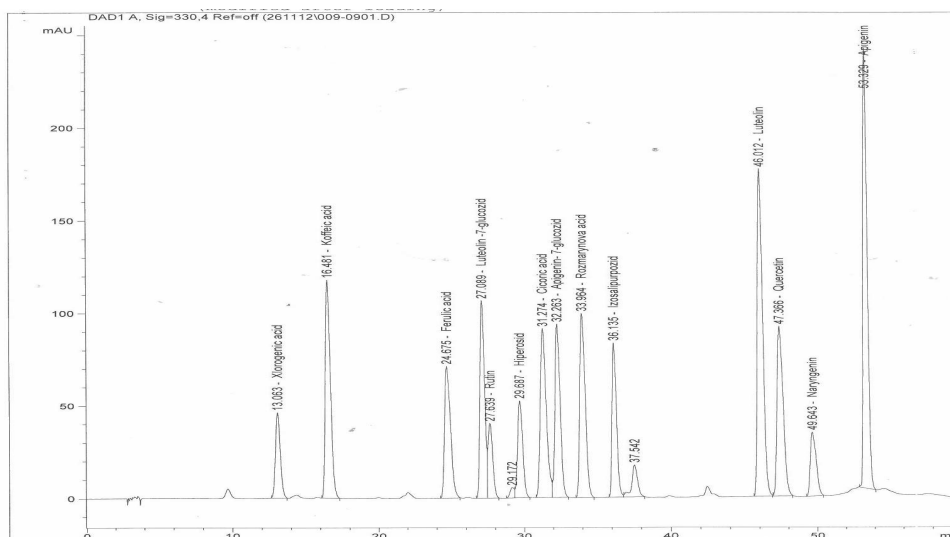


Рис 1. Хроматограма розчинів стандартних зразків.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У витягу виявлено велику кількість БАР, серед яких ідентифіковано хлорогенову, кофеїнову, ферулову, розмаринову кислоти, лютеолін, кверцетин, апігенін, апігенін-7-глікозид, рутин (рис. 2). Найбільшу кількість у настоянці складають хлорогенова кислота, лютеолін і апігенін. Хлорогенова кислота є важливою біологічно активною речовиною з антимікробною, протівірусною дією та високою антиоксидантною активністю. Кверцетин, лютеолін, апігенін – це флавоноїди, які володіють високим антиоксидантним потенціалом.

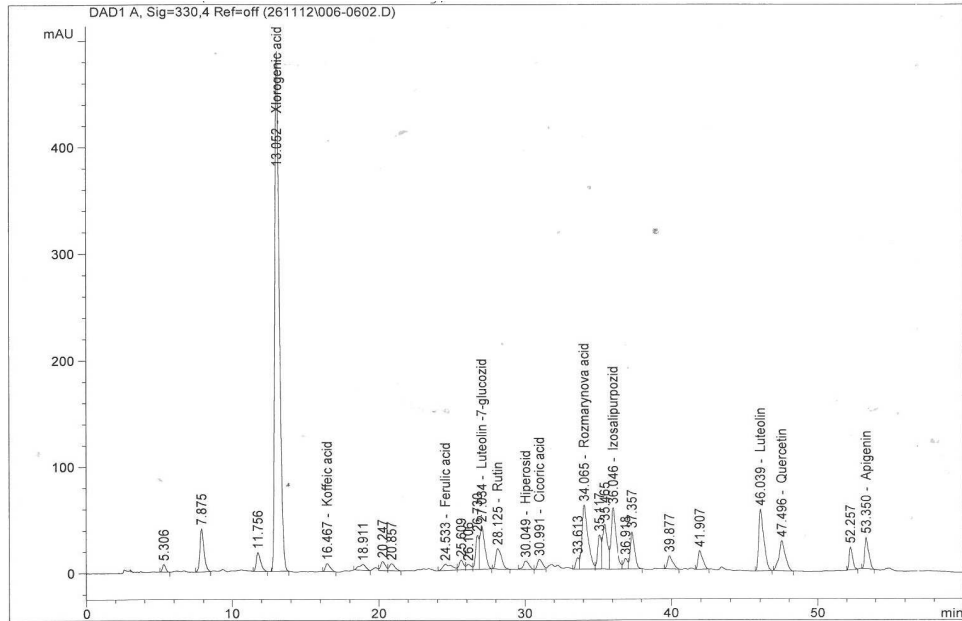


Рис 2. Хроматограма досліджуваного розчину.

Для дослідження антимікробної активності настоянки використовували тест культури таких мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231. Дослідження проводили методом дифузії в агар відповідно до вимог ДФУ 1.4 пункт 2.7. [3]. В лунку вносили 0,09 мл зразка, інкубували протягом 24 годин при 35°C для бактерій та протягом 48 годин при 25°C. Найбільш чутливими стосовно досліджуваної настоянки виявилися штами *S. aureus* (діаметри зон затримки росту – 17–18 мм), та *B. subtilis* (діаметр зони затримки росту – 16 мм). Також чутливою виявилась культура *P. aeruginosa* (діаметр зони затримки росту – 11 мм). Для штаму *C. Albicans* зона затримки росту була незначною.

Для точнішого визначення характеру дії настоянки використовували метод серійних розведень в соєво-казеїновому бульйоні, мікробіологічне навантаження становило 5000 клітин тест-мікроорганізму на 1 мл. Інкубували протягом 24 годин

при 35°C для бактерій та протягом 48 годин при 25°C. З'ясувалося, що досліджувана настоянка виявляє антибактеріальну дію, а саме бактерицидну щодо грам-позитивних та до грам-негативних бактерій, а також до грибів роду *Candida*. [3].

Для встановлення повного спектру біологічної активності використано комп'ютерний скринінг біологічної активності виділених речовин за програмою PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [4,5]. Проведено скринінг 8 сполук, виявлених в настоянці, а саме лютеоліну, хлорогенової, розмаринової, елагової, ферулової кислот, апігеніну, кверцетину, рутину. Для оцінки відібрано активності актуальні при зовнішньому застосуванні з показником P_a більше 0,3 – це антисептична, протизапальна, анестезуюча, антипротозойна, антибактеріальна, протигрибкова, противірусна (герпес), противірусна (грип), противірусна (Риновірус), протитуберкульозна, протиалергічна, імуностимулююча, протипухлинна (рак язика).

З одержаних даних прогнозу PASS можна зробити висновок, що настоянка на практиці, може виявляти необхідні властивості для створення засобу догляду за ротовою порожниною, а саме: протизапальні, знеболювальні, протипухлинні (рак дрібних клітин язика), антисептичні, антибактеріальні, що доцільно перевірити експериментально.

ВИСНОВКИ

1. Проведено аналіз даних літературних джерел, визначено компонентний складу методом ВЕРХ, досліджено чутливість мікроорганізмів до дії водно-спиртової настоянки *S.purpurea* та проведено комп'ютерний скринінг біологічної активності діючих речовин за програмою PASS.
2. В досліджуваному екстракті ідентифіковано хлорогенову, кофеїнову, ферулову, розмаринову кислоти, лютеолін, кверцетин, апігенін, апігенін-7-глікозид, рутин.
3. Виявлено антимікробну активність досліджуваної настоянки до різних штамів *Staphylococcus aureus*.
4. Одержані результати свідчать про доцільність подальшого дослідження скорзонери пурпурової як сировини для одержання фітопрепаратів з антиоксидантною та антимікробною дією.

Список літератури

1. Ugur A. Chemical composition of endemic *Scorzonera sandrasica* and studies on the antimicrobial activity against multiresistant bacteria. / A. Ugur // Mugla University, Mugla, Turkey J Med Food. – 2006. – Vol. 13, – P. 9–15.
2. Zidorn C. Tyrolobibenzyls E and F from *Scorzonera humilis* and distribution of caffeic acid derivatives, lignans and tyrolobibenzyls in European taxa of the subtribe Scorzonerinae / C. Zidorn, E.P. Ellmerer // Phytochemistry, Elsevier Science. – 2003. – Vol. 63, № 1. – P. 61–67.
3. Державна фармакопея України 1-е видання доповнення 4. // Харків: Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» на підставі Європейської фармакопеї, 2011. – 538 с.
4. Goel R.K. PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products / R.K. Goel, D. Singh, A. Lagunin, V. Poroikov // Springer Science+Business Media, LLC. – 2010. – P. 47–55.
5. Rollinger J.M. Virtual screening for the discovery of bioactive natural products / J.M. Rollinger, H. Stuppner, T. Langer // Prog Drug Res. – 2008. – Vol. 65. – P. 211–249.

6. Вишневська М.С., Прогноз спектра біологічної активності сполук як основа для пошуку нових ліків./ М.С. Вишневська, Н.М. Косяченко, Л.І. Вишневська // Запорожский медицинский журнал.- 2011. – Т. 13, № 2. – С. 53–57.

Стадницькая Н.Е. Скорзонера пурпурная – перспективы использования в медицине / Н.Е. Стадницькая, И.В. Павлюк, И.И. Думич, Н.Г. Оверко, О.В. Лисак, И.И. Корсак, В.П. Новиков // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С.385-390.

С целью изучения спектра фармакологического действия *S.purpurea* был проведен анализ данных литературных источников, определено компонентный состав методом ВЭЖХ, исследовано чувствительность микроорганизмов к действию водно-спиртовой настойки *S.purpurea* ы проведен компьютерный скрининг биологически активных действующих веществ с использованием программы PASS. В исследованном экстракте идентифицировано хлорогеновую, кофейную, феруловую, розмариновую кислоты, лутеолин, кверцетин, апигенин, апигенин-7-гликозид, рутин. Обнаружено антимикробную активность исследуемой настойки к *Staphylococcus aureus*. Полученные результаты свидетельствуют про целесообразность дальнейших исследований скорзонеры пурпурной как сырья для получения фитопрепаратов с антиоксидантным и антимикробным действием.

Ключевые слова: настойка скорзонеры пурпурной, метод ВЭЖХ, антибактериальная активность, компьютерный скрининг.

SKORZONERA PURPUREA – FUTURE USE IN MEDICINE

Stadnitska N.Y., Pavluk I.V., Dumich I.I., Overko N.G., Lisak O.V., Korsak I.I., Novikov V.P.

¹*National university Lviv Polytechnica», Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology Lviv, Ukraine*

²*Corporation «Arterium», «Halychpharm» Lviv, Ukraine*

³*PE «TECHARM» Lviv, Ukraine*

E-mail: vnovikov@polynet.lviv.ua

High demand for drugs of natural origin leads to the search for new plant -specific spectrum of pharmacological action. Unexplored in terms of pharmacological is *Skorzonera purple* (*Scorzonera purpurea* L.). Plants of this family are sources of various flavonoids, which have antioxidant and antimicrobial properties. *Skorzonera purpurea* herb collected during the flowering period in in the Carpathian region. Investigated raw material used to produce ethanol-water extraction by maceration. In the extract revealed a large number of biologically active substances, including chlorogenic , caffeine , ferulic , rosemary acid, luteolin , quercetin, apigenin , apigenin -7 -glucoside , rutin. The largest number in tincture form chlorogenic acid, luteolin and apigenin . Chlorogenic acid is an important biologically active substance with antimicrobial , antiviral effect and high antioxidant activity. Quercetin , luteolin , apigenin - are flavonoids, which have high antioxidant potential. To investigate the antimicrobial activity of tincture. The most sensitive to the study infusion were such bacterius as *S. aureus* ATCC 6538, and *B. subtilis* ATCC 6633. There appeared to be a sensitive culture of *P. aeruginosa* ATCC 9027 For strain of yeasts *C. albicans* ATCC 10231 effect was not observed. A screening of eight compounds found in tincture , namely luteolin, chlorogenic, rosemary, ellagic, ferulic acid, apigenin, quercetin, rutin. From the data obtained prediction PASS can be

concluded that the tincture in practice can identify the necessary properties to create a photo of oral care products , namely, anti-inflammatory, analgesic , anti-cancer (small cell carcinoma of the tongue), antiseptic , antibacterial , which should be verified experimentally. So, with the aim of studying the spectrum of pharmacological action *S.purpurea* have analyzed the data of the literature , determined by HPLC component part, investigated the sensitivity of microorganisms to the action of water-alcohol tincture *S.purpurea* and held computerized screening of biological activity of active substances for the PASS program .There were identified chlorogenic, caffeine, ferulaic, rosemary acids, luteolin, quercetin, apigenin, apigenin-7-glucoside, rutin. There was identified other activity against different isolates *Staphylococcus aureus*. The results confirm the feasibility of further research skorzonery purple as raw material for herbal remedies with antioxidant and antimicrobial properties.

Keywords: tincture of *Scorzonera purpurea*, HPLS method, antibacterial activities, computer screening.

References

1. Ugur A., Chemical composition of endemic *Scorzonera sandrasica* and studies on the antimicrobial activity against multiresistant bacteria, Mugla University, Mugla, Turkey J. Med. Food, **13**, 9 (2010).
2. Zidorn C., Ellmerer E.P., Tyrolbibenzyls E and F from *Scorzonera humilis* and distribution of caffeic acid derivatives, lignans and tyrolbibenzyls in European taxa of the subtribe Scorzonerinae, Phytochemistry, Elsevier Science **63**, **1**, 61 (2003).
3. State Pharmacopoeia of Ukraine 1.4., 538 p. (Ukrainian Scientific Centre Pharmacopoeial quality of drugs, Charkiv 2011).
4. Goel R.K., Singh D., Lagunin A., Poroikov V., PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products, Springer Scienc+Business Media, LLC, **17**, **2**, 47 (2010).
5. Rollinger J.M., Stuppner H., Langer T, Virtual screening for the discovery of bioactive natural products., Prog. Drug. Res. **65**, 211 (2008).
6. Vyshnevskya M.S., Kosyachenko N.M., Vyshnevskya L.I., Weather spectrum of biological activity of the compounds as a basis for finding new medicines, Zaporozhye Med. J., **13**, **7**, 53 (2011)

Поступила в редакцію 16.11.2013 з.