

УДК 547.9:582.284.5

СОСТАВ ЛИПОФИЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ И АКТИВНОСТЬ ПРОТИВ ОСНОВНОЙ ПРОТЕАЗЫ SARS-COV-2

© Т.П. Кукина^{1*}, И.А. Елшин¹, О.И. Сальникова¹, П.В. Колосов², С. Хашчулуун³, Б. Бадмаараг³, С. Чимидцэрэн³, О. Эрдэнэзая³, Ц. Сандаг³, Д.А. Каракай¹, М.А. Пухначева¹, А.А. Нефедов¹, В.Ю. Чиркова², Беленькая С.В.², Д.Н. Щербаков^{2,4}

¹ Новосибирский институт органической химии СО РАН
им. Н.Н. Ворожцова, пр. Акад. Лаврентьева, 9, Новосибирск, 630090, Россия,
kukina@nioch.nsc.ru

² Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул,
656049, Россия

³ Монгольский национальный университет медицинских наук, ул. С. Зориг,
3, Улаанбаатар, 14210, Монголия

⁴ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская
область, 630559, Россия

Изучен состав липофильных компонентов *Caragana jubata* (Pall.) Poir. Кислые и нейтральные компоненты идентифицировали методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. В качестве экстрагентов использовали гексан и метил-*трет*-бутиловый эфир (МТБЭ), обладающий всеми достоинствами диэтилового эфира, но лишенный его недостатков. В результате сравнения с базами данных были обнаружены фенолкарбоновые и алифатические кислоты с длиной цепи от 8 до 32 атомов углерода, в том числе насыщенные, ненасыщенные и двухосновные кислоты. Идентифицировано более 200 тритерпеновых и алифатических компонентов неомыляемого остатка и кислых фракций. Ранее неомыляемые остатки и кислоты липофильных экстрактов практически не изучались. Детально изучены только компоненты водных и спиртовых экстрактов рода *Caragana*. Для тестирования биологической активности были приготовлены 20 образцов цельных экстрактов с различными растворителями. Использованы гексан, МТБЭ, МТБЭ после экстракции гексаном, этанол, вода, водный этанол 70%, водный этанол 40%, этанол после экстракции гексаном и МТБЭ, вода после экстракции гексаном, МТБЭ и этанолом. Лишь один из изученных образцов проявляет ингибирующую активность в отношении основной протеазы SARS-CoV-2 – экстракт, полученный МТБЭ после экстракции гексаном.

Ключевые слова: *Caragana jubata* (Pall.) Poir., экстрактивные вещества, метил-*трет*-бутиловый эфир, фенолкарбоновые кислоты, неомыляемый остаток, 3CLpro, SARS-CoV-2.

Для цитирования: Кукина Т.П., Елшин И.А., Сальникова О.И., Колосов П.В., Хашчулуун С., Бадмаараг Б., Чимидцэрэн С., Эрдэнэзая О., Сандаг Ц., Каракай Д.А., Пухначева М.А., Нефедов А.А., Чиркова В.Ю., Беленькая С.В., Щербаков Д.Н. Состав липофильных компонентов караганы гривастой и активность против основной протеазы SARS-CoV-2 // Химия растительного сырья. 2024. №4. С. 333–343. DOI: 10.14258/jcprm.20240413866.

Введение

Карагана гривастая, или верблюжий хвост (*Caragana jubata* (Pall.) Poir.) – кустарник семейства бобовые высотой 30–100 см. Ветви саблевидные с черноватой корой, густо покрытой живыми опушенными молодыми черешками и отмершими игольчатыми черешками прошлых лет в виде тонких иголок. Листья небольшие и имеют сложноперистую форму. Прилистники имеют треугольную форму и оканчиваются шипом. Цветоножки короткие. Венчик белый с розоватым оттенком. Бобы длиной 1.5–2.0 см продолговатые и волосистые. Ареал произрастания включает лесной и субальпийский пояса. Цветет в июне, размножается семенами [1, 2]. Название этого растения происходит от киргизских слов: кара (черный), гана (ухо) – по названию черноухих лисиц, живущих в зарослях караганы кустарниковой (*Caragana frutex*). В России карагана гривастая распространена на Дальнем Востоке, в районе вершины Мунку-Сардык, а также в горах

* Автор, с которым следует вести переписку.

Средней Азии. Произрастает на юго-востоке Тувы (Сангиленском горном таежно-лугово-степном и Восточно-Тануольском природных районах) [3]. Также *C. jubata* встречается в виде кустарника до 3 м высотой в Арктике, Сибирской Арктике, Восточной Сибири (во всех районах Енисея), на Дальнем Востоке (в Охотском крае). Растет на сухих каменистых склонах, песчаных и каменистых берегах озер, на морских террасах, среди кустарников, в высокогорных степях и лугах [4]. За рубежом широко произрастает в Монголии, северной части Китая, Тибете [5]. Обычно растет на глинистых, каменистых высокогорных склонах, в высокогорных степях [6]. Интродукционное испытание караганы в ЦСБС (Центральный сибирский ботанический сад СО РАН) началось с середины 1950-х гг. [6]. Карагана гривастая активно используется в этномедицине Восточной Сибири, особенно Иркутской области, юго-западных районов Бурятии, юго-восточных областей Тувы [7]. За рубежом – в северной части Китая, в Тибете и Монголии. В традиционной медицине отвары корней и ветвей караганы гривастой применяют при острых респираторных заболеваниях и гриппе. Благодаря легкому раздражающему действию присутствующих сапонинов происходит усиление секреции желез, что ведет к разжижению мокроты и к облегчению ее эвакуации [8]. Карагану гривастую применяют наружно при раневых инфекциях, особенно гнойных. Растение также используется при бессоннице, гипертонической болезни, радикулите. Отвар надземной части растения применяется при лечении различных воспалительных процессов. Часто *C. jubata* используют при заболеваниях кожи и слизистых: при дерматите, гнойничковых поражениях кожи, пиодермите, стоматите, гингивите, ангине и др. [9]. Для заготовок собирают только надземную часть растения [3, 10]. При ангине полощут горло теплым отваром через каждые 30 мин в течение 2–3 дней. Внутрь отвар караганы назначают при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, геморрое, язве желудка и двенадцатиперстной кишки, при ревматизме [11]. Имеются сведения об использовании отвара *C. jubata* при заболеваниях печени [12]. В этномедицине Восточной Сибири большой популярностью растение используется при лечении воспалительных заболеваний женской половой сферы: при эрозии шейки матки, метроррагиях и меноррагиях, нарушениях менструации и при других женских заболеваниях. Часто при лечении тех или иных заболеваний сочетают наружное применение отвара с приемом внутрь [13, 14]. В этномедицине Тувы *C. jubata* используется как понижающее давление, общеукрепляющее и повышающее физическую выносливость средство [15, 16]. В традиционной медицине Китая ее используют при заболеваниях крови и кровеносной системы: в частности, при атеросклерозе, тромбозе, артериальной гипертензии [4, 10]. В тибетской медицине растение используется при заболеваниях мышечной системы, при поражениях кожи [17]. В обзоре [4] упоминается, что за счет выделенных птерокарпановых гликозидов *C. jubata* обладает противоопухолевой активностью против двух клеточных линий опухолей A549 и P388. В исследовании [18] из нее были выделены два ингибитора рецепторов эпидермального фактора роста, что указывает на противоопухолевую активность этого растения. Также авторы отмечают возможное противоопухолевое влияние флавоноидов, содержащихся в *C. jubata*. В других экспериментальных исследованиях было установлено, что сумма флавоноидов растения обладает гепатопротекторными свойствами [12], настойка древесины – стресспротекторными свойствами, ветви оказывают противодиабетическое действие, надземная часть проявляет антибактериальную и противовирусную активность в отношении вирусов гриппа «Гонконг» [3, 10]. Эффективность *C. jubata* показана на модели системного воспаления, индуцированного введением бактериального липополисахарида [19]. Отвар надземной части обладает гипогликемическими [20], противовоспалительными и гепатопротекторными свойствами [21, 22], а также проявляет противовирусную активность в отношении вируса парагриппа 3-го типа и вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типов [17, 23, 24]. Имеются данные о наличии ангиопротекторной активности *C. jubata* [22]. В клинике экстракт надземной части эффективен в лечении хронического афтозного стоматита [8]. Имеются данные о разработке эмульсионной мази, содержащей сухой экстракт караганы гривастой и обладающей противогерпетической активностью [25]. Дальнейшее изучение растения как средства лечения гепатита и цирроза печени считается перспективным [12, 21, 22]. В составе его обнаружены флавоноиды, алкалоиды, сапонины, дубильные вещества. Выделено и исследовано эфирное масло [22, 23, 26–28]. Тем не менее данные о липофильных компонентах *C. jubata* весьма ограничены [4, 10]. Имеются лишь сведения о наличии в других видах караганы стеринов [17]. Мы сосредоточили свое внимание на малополярных метаболитах, изучив состав и активность в тесте ингибирования основной протеазы (3CLpro)SARS-CoV-2.

Экспериментальная часть

Сырье надземной части заготовлено в фазу цветения в августе 2021 года в окрестностях села Орлик, Республика Бурятия и высушено при комнатной температуре в помещении без доступа прямых солнечных

лучей. Воздушно-сухое сырье размолото на шнековом измельчителе и просеяно через сито с отверстиями размером 2 мм. Экстракты для исследования получали двумя способами. В первом случае использовали исчерпывающую экстракцию с помощью метил-трет-бутилового эфира (МТБЭ) как описано ранее [29, 30] в насадке Сокслета, в течение 26 ч (4×6-7 ч). Второй вариант предусматривал исчерпывающую экстракцию сырья гексаном, а затем МТБЭ. Выход экстрактивных липофильных веществ при исчерпывающей и ступенчатой экстракции достигает 3% от веса сырья. Также в работе были получены этанольный экстракт после исчерпывающей экстракции сырья гексаном и МТБЭ, а так же водный экстракт после исчерпывающей экстракции гексаном, МТБЭ и этанолом. Кроме того, получены экстракты сырья этанолом, водой и водно-этанольными растворами 3 : 2 и 3 : 7. Экстракты, полученные гексаном, МТБЭ после экстракции гексаном и исчерпывающий экстракт с помощью МТБЭ анализировали аналогично [29]. Получены 3 фракции для каждого экстракта: свободные кислоты, связанные кислоты и неомыляемый остаток (НО). Кислые компоненты метилировали диазо-метаном, нейтральные вещества НО подвергли хроматографическому разделению на колонке с силикагелем, используя в качестве элюента гексан с повышающимся от 0 до 50% диэтилового эфира аналогично [29]. В результате получены концентраты углеводов, кетонов, алифатических и терпеновых спиртов, включая стеринны и диолы, анализ которых осуществляли при помощи ГХ-МС в Химическом исследовательском центре коллективного пользования СО РАН. Компоненты НО анализировали без дериватизации в условиях, описанных ранее [29]. Содержание идентифицированных компонентов сведено в таблицы 1 и 2.

Ингибирующую активность экстрактов оценивали по величине IC50, за которую принимали концентрацию тестируемого экстракта (или фракции), снижающую уровень флуоресценции на 50% от наблюдаемого без добавления ингибитора, при деструкции пептидного субстрата рекомбинантной протеазой 3CLpro, как описано ранее [29–30]. Пептидный субстрат содержал пару, флуорофор (Dabcyl) – тушитель (Edans), обеспечивающие FRET эффект. Уровень флуоресценции, возникающий вследствие расщепления пептидного субстрата Dabcyl-KTSAVLQ↓SGFRKME(Edans)NH₂ протеазой 3CLpro, регистрировали с помощью прибора CLARIOstarPlus (BMGLabtech) при длинах волн 355 и 460 нм для возбуждения/излучения соответственно. Реакционные смеси, содержащие TrisHCl буфер, флуорогенный субстрат, тестируемый экстракт и 3CLpro, готовили и инкубировали в течение 30 мин в 384 луночном планшете при 30 °С. Калибровку прибора проводили по раствору пептида, подвергнутого полному гидролизу. Измерение проводили в трехкратной повторности в режиме кинетического сканирования. Для расчетов IC50 использовали сопутствующее программное обеспечение MARS DataAnalysis.

Обсуждение результатов

Полученные в ходе хроматографического разделения фракции НО содержали алифатические и терпеновые компоненты. В таблицу 1 сведены результаты анализа нейтральных алифатических компонентов НО.

Таблица 1. Компоненты неомыляемых остатков липофильных экстрактов караганы гривастой, мг%

№	Соединение	Гексановый экстракт	Экстракт МТБЭ после гексана	МТБЭ экстракт
1	2	3	4	5
1	Додекан	—*	0.20	—
2	2,6-Триметилундекан	—	0.08	—
3	2-Метилдодекан	—	0.11	—
4	4-Фенил-2-бутанон	—	0.57	—
5	4-Фенил-2-бутанол	—	0.63	—
6	7-Метилтридекан	—	0.15	—
7	Тридекан	—	0.91	0.14
8	6-Метилтридекан	—	0.13	—
9	1,2,3,4-Тетрагидро-2,7-диметилнафталин	—	0.09	—
10	Гептилциклогексан	—	0.18	—
11	2,3-Диметилдодекан	—	0.11	—
12	2,6,10-Триметилдодекан	—	0.30	—
13	1,1,3-Триметил-2(3-метилпенгтил)циклогексан	—	0.14	—
14	Тетрадекан	0.18	0.81	0.58
15	5-Фенилбицикло[2.2.1]-гепт-2-ен	—	0.38	—
16	Октилциклогексан	—	0.18	—
17	2,6,10-Триметилтридекан	—	0.27	—

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
18	1-Изопентил-2,3,4-триметилбензол	–	0.12	–
19	Пентадекан	–	0.56	0.14
20	Trans-Неролидол	–	0.11	1.62
21	2-Тетрадеканон	–	–	0.46
22	Гексадекан	0.14	0.30	0.55
23	Дифенилметанон	–	0.07	0.45
24	1,8,11,14-Гептадекатетраен	0.32	0.23	0.58
25	Гумулен-6,7-эпоксид	–	–	0.86
26	2-Пентадеканон	–	–	0.64
27	Гептадекан	–	0.15	–
28	2,6,10,14-Тетраметилпентадекан	–	0.09	–
29	Октадекан	–	0.12	0.15
30	2-Гексадеканон	–	–	0.47
31	Фенантрен	–	–	0.10
32	2-Гептадеканон	–	–	1.01
33	Изогексадеканол	0.30	0.18	1.85
34	Гексагидрофарнезиллацетон	2.58	2.15	15.1
35	Гексадеканол	51.19	24.52	82.51
36	Нонадекан	–	0.16	–
37	Оксациклогептадекан-2-он	–	0.51	–
38	Изогептадеканол	8.95	2.02	17.49
39	Гептадеканол	2.86	0.51	5.72
40	Эйкозен	–	0.09	–
41	2-Октадеканон	–	–	0.49
42	Эйкозан	–	0.16	–
43	Изооктадеканол	5.76	0.91	12.47
44	Октадеканол	70.76	17.25	133.52
45	Эпи-13-маноол	–	0.11	–
46	Генэйкозен	–	0.09	–
47	2-Нонадеканон	–	–	1.01
48	Генэйкозан	0.18	0.50	0.33
49	Фитол	1.76	0.26	7.38
50	Нонадеканол	2.37	0.25	4.69
51	Изононадеканол	4.05	0.62	10.15
52	Гексадекандиол	–	–	0.99
53	Оксациклононадекан-2-он	–	1.29	–
54	Докозен	–	0.08	–
55	Докозан	0.15	0.25	0.27
56	2-Эйкозанон	–	0.06	0.81
57	Эйкозадиен-1-ол	3.34	4.43	20.61
58	9-cis-Эйкозен-1-ол	3.78	2.35	19.72
59	Эйкозанол	49.03	9.77	84.56
60	Трикозан	2.57	1.85	3.02
61	2-Генэйкозанон	0.27	0.12	1.66
62	Изогенэйкозанол	2.45	0.29	7.05
63	2-Метилтрикозан	0.17	0.11	0.19
64	Генэйкозанол	1.69	0.19	5.20
65	Тетракозан	0.89	0.47	1.31
66	2-Докозанон	–	0.08	1.17
67	Изодокозанол	1.19	0.18	3.33
68	2-Метилтетракозан	0.12	0.84	0.14
69	Докозадиен-1-ол	1.82	2.10	19.40
70	Докозанол	27.26	7.35	110.78
71	Пентакозан	6.11	2.27	7.41
72	2-Трикозанон	0.36	0.14	2.46
73	2-Метилпентакозан	0.21	0.13	0.24
74	Изотрикозанол	1.91	0.12	4.62
75	3-Метилпентакозан	–	0.09	0.18
76	Гексакозан	0.61	0.22	0.98
77	Гексакозен	0.04	0.02	0.15

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
78	Трикозанол	1.04	–	2.45
79	2-Тетракозанон	0.33	0.07	2.36
80	Тетракозаналь	–	0.11	–
81	Изотетракозанол	–	0.27	1.12
82	Тетракозадиен-1-ол	–	0.37	2.47
83	Тетракозанол	34.85	5.62	86.19
84	Гептакозан	5.37	1.30	6.82
85	3-Пентакозанон	–	–	0.55
86	2-Пентакозанон	0.63	0.16	4.37
87	Пентакозаналь	–	0.04	0.30
88	2-Метилгептакозан	–	–	0.15
89	Изопентакозанол	1.35	–	3.31
90	Октакозен	0.05	–	0.11
91	Октакозан	1.37	0.32	2.18
92	Пентакозанол	1.61	–	4.14
93	2-Гексакозанон	0.48	0.11	3.19
94	Сквален	0.63	0.46	1.70
95	Стигмаста-3,5-диен	–	0.08	–
96	Гексакозаналь	–	0.15	0.43
97	Гексакозанол	15.18	3.49	49.95
98	Нонакозан	23.09	5.47	29.65
99	2-Гептакозанон	1.44	0.33	10.10
100	2-Метилнонакозан	0.26	–	0.32
101	3-Метилнонакозан	0.08	–	–
102	3-Октакозанон	–	–	0.89
103	Триаконтан	1.19	0.18	1.92
104	2-Октакозенон	0.13	–	0.90
105	2-Октакозанон	0.56	0.17	3.87
106	Октакозаналь	–	0.20	0.86
107	10-Нонакозанон	0.35	–	2.20
108	Октакозанол	5.99	2.07	18.83
109	Гентриаконтан	20.95	2.43	27.30
110	10-Нонакозанол	4.10	0.30	2.38
111	2-Нонакозанон	1.94	0.46	15.02
112	3-Нонакозанон	–	–	1.43
113	Холестерин	0.40	0.52	0.27
114	Витамин Е	0.45	0.10	1.51
115	3-Триаконтанон	–	–	0.79
116	Дотриаконтан	0.21	–	0.28
117	Эргостерин	–	–	0.30
118	2-Триаконтенон	–	–	1.07
119	2-Триаконтанон	0.99	0.11	5.88
120	1-Нонакозанол	–	0.07	–
121	2-Нонакозанол	–	–	2.08
122	Триаконтаналь	–	0.52	1.39
123	Кампестерин	0.81	0.76	1.53
124	Эргостан-3-ол	0.16	–	0.24
125	4-Метилхолест-7-ен-3-ол	0.17	–	1.47
126	Тритриаконтан	0.90	0.10	1.75
127	Урса-9(11),12-диен-3-ол	–	–	1.02
128	Триаконтанол	9.39	5.09	29.30
129	3- Гентриаконтанон	–	–	2.02
130	2- Гентриаконтанон	2.13	1.26	18.72
131	2-Гентриаконтанол	–	–	1.43
132	Обгусифолиол	0.11	–	1.02
133	Стигмастерин	0.76	1.14	1.65
134	27-Норхолест-5-ен-3-ол 25-пропилиден	0.28	–	–
135	β -Ситостерин	47.18	22.29	81.04
136	Фукостерин	–	0.42	1.07
137	β -Амиренон	–	0.08	–

Окончание таблицы 1

1	2	3	4	5
138	Стигмастанол	7.64	1.07	11.90
139	β-Амирин	0.21	0.14	0.24
140	Лупенон	0.71	0.70	–
141	α-Амиренон	0.04	0.23	–
142	Стигмастан-3-он	–	1.08	–
143	Циклоартенол	27.50	0.55	47.27
144	Лулеол	4.22	0.21	5.46
145	α-Амирин	0.48	0.06	1.04
146	2-Дотриаконтанон	–	–	1.02
147	Стигмаста-3,5-диен-3-он	–	0.03	11.72
148	Стигмаст-7-ен-3-ол	0.08	–	–
149	Стигмаста-3,5-диен-7-он	0.38	1.07	–
150	24-Метиленициклоартан-3-он	0.26	0.25	1.67
151	24-Метиленициклоартанол	4.40	0.98	5.14
152	Цитростадиенол	3.93	0.66	18.15
153	2-Тритриаконтанон	0.29	0.13	4.09
154	Дотриаконтанол	–	–	1.05
155	Нонакозан-5,10-диол	–	–	1.11
156	9,19-Циклоарт-23-ен-3,25-диол	7.84	1.58	5.37
157	9,19-Циклоарт-23-ен-3,25-диол	2.84	2.37	6.19
158	Метилбетулинат	0.17	–	–
159	9,19-Циклоарт-22-ен-3,25-диол	0.32	1.08	1.20
160	9,19-Циклоарт-22-ен-3,25-диол	2.91	0.73	2.63
161	Стигмаста-5,25-диен-3-ол	0.09	–	–
162	Оксациклотрикозан-2-он	–	0.07	–

*– Не обнаружено.

Из таблицы 1 следует, что ступенчатая экстракция гексаном, а затем МТБЭ позволяет идентифицировать большее количество компонентов, чем при исчерпывающей экстракции гексаном или МТБЭ. Помимо циклоартановых тритерпенолов и фитостеринов, существенный вклад в состав вносят алканы и алифатические спирты, включая разветвленные.

Как следует из таблицы 2, основными компонентами являются жирные кислоты пальмитиновая, линолевая, а также стеариновая, арахидоновая, бегеновая, лигноцериновая, олеиновая и линоленовая. Высокое содержание предельных алифатических кислот указывает на то, что в составе присутствуют не только жиры, но и воск.

Результаты по определению ингибирующей активности экстрактов представлены в таблице 3.

Наибольшая активность, с IC₅₀ на уровне 0.05±0.005 мг/мл, в ингибировании главной протеазы SARS-CoV-2, наблюдалась у образца экстракта, полученного МТБЭ после экстракции гексаном.

Таблица 2. Кислые компоненты липофильных экстрактов караганы гривастой, мг%

Кислота	Гексановый экстракт		Экстракт МТБЭ после гексана		МТБЭ-экстракт	
	Свободные	Связанные	Свободные	Связанные	Свободные	Связанные
1	2	3	4	5	6	7
Бензойная	1.68	–	–	–	–	–
Салициловая	1.73	–	1.06	–	1.28	–
Каприловая	0.16	–	–	–	–	–
Пеларгоновая	0.19	–	–	–	–	–
Каприновая	0.21	–	1.52	–	2.47	–
Анисовая	1.58	–	3.32	–	3.96	–
4-Метоксибензил-уксусная	–	–	3.12	–	4.28	–
Октандиовая	–	–	3.75	–	2.03	–
Нонандиовая	–	–	11.28	–	10.29	–
3,4-Диметокси-бензойная	–	–	4.37	–	–	–
3,4-Диметокси-коричная	–	–	2.36	–	–	–
3-Метокси-4-этоксисбензойная	–	–	0.19	–	–	–
Декандиовая	4.21	3.31	4.95	–	–	1.37
Миристиновая	3.50	12.93	4.30	3.52	11.38	8.91

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7
Ундекандиовая	–	–	4.02	–	2.28	–
13-метилтетрадекановая	–	3.65	–	–	–	1.63
Пентадекановая	2.36	3.68	5.36	1.55	4.95	3.71
14-Метилпентадекановая	1.97	1.70	5.93	2.15	5.71	2.43
Пальмитолеиновая		2.67	3.15	3.11	2.13	2.02
Пальмитиновая	106.06	350.06	93.66	91.15	179.19	272.48
15-Метилгексадекановая	2.20	6.22	5.20	9.31	5.32	2.32
14-Метилгексадекановая	1.94	5.24	2.29	6.17	5.18	2.36
Маргариновая	2.30	3.96	5.01	1.83	5.95	2.55
Линолевая	67.66	173.42	31.77	96.28	267.28	138.03
Олеиновая	23.30	44.39	11.16	11.62	57.60	19.98
Линоленовая	3.25	9.59	3.26	22.94	32.75	19.38
Вакценовая	2.62	8.26	2.18	3.02	1.02	1.23
Стеариновая	10.44	19.02	16.13	29.14	25.65	13.59
Гексадекандиовая	–	–	8.04	4.22	5.64	3.44
Арахидиновая	11.41	23.57	25.81	10.36	19.35	20.93
Генэйкозановая	4.49	2.06	2.22	1.96	6.93	1.64
Октадекандиовая	–	–	4.76	2.14	–	–
Бегеновая	40.67	29.49	52.56	30.13	72.49	14.28
Трикозановая	7.12	2.92	8.15	2.74	7.49	1.82
Лигноцериновая	61.95	29.00	58.56	2.96	105.88	6.92
Пентакозановая	2.72	2.24	2.86	3.12	11.54	3.21
Церотиновая	27.72	10.42	7.29	3.82	34.03	5.44
Гептакозановая	3.11	1.82	–	–	2.95	2.24
Монтановая	15.91	5.36	2.05	1.17	16.37	2.05
Нонакозановая	4.54	1.28	–	–	2.65	1.87
Мелиссовая	11.69	2.76	–	–	11.72	1.19
Лацериновая	4.74	1.18	–	–	2.26	1.04

Таблица 3. Значения полуингибирующей концентрации для образцов экстрактов, полученных с использованием различных растворителей

№	Экстрагент	IC50, мг/мл
1	Гексан	>0.1
2	МТБЭ	>0.1
3	МТБЭ / гексан	0.05±0.005
4	Этанол / МТБЭ / гексан	>0.1
5	H ₂ O / Этанол / МТБЭ / гексан	>0.1
6	Этанол	>0.1
7	H ₂ O / Этанол 3 : 2	>0.1
8	H ₂ O / Этанол 3 : 7	>0.1
9	H ₂ O	>0.1

Выводы

1. Методом ГХ-МС исследован состав экстрактивных веществ *Caragana jubata* (Pall.) Poir. Идентифицировано более 200 соединений, большинство из них обнаружено в сырье впервые.

2. В составе нейтральных компонентов обнаружены алифатические и терпеновые соединения: углеводороды, кетоны, спирты, в том числе разветвленные, и стерины, всего 162 компонента.

3. Повышение температуры анализа кислых компонентов позволило выявить алифатические компоненты с длиной цепи более 20 атомов углерода, ранее не найденные в этом растении. Связанные и свободные компоненты различаются по качественному и по количественному составу. Всего идентифицировано 42 кислоты.

4. Ингибирующую активность в отношении основной протеазы вируса SARS-CoV-2 проявил экстракт, полученный МТБЭ после экстракции гексаном.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Химическому исследовательскому центру коллективного пользования СО РАН за проведение ГХ-МС-анализа.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-54-44016/20.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Bhardwaj P.K., Kaur J., Sobti R.C., Ahuja P.S., Kumar S. Lipoxygenase in *Caragana jubata* responds to low temperature, abscisic acid, methyl jasmonate and salicylic acid // Gene. 2011. Vol. 483, no. 1. Pp. 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.05.014>.
2. Павлова П.А. Интродукционное испытание растений из семейства бобовых (Fabaceae Lindl.) // Вестник АГАУ. 2015. №5. С. 95–99.
3. Лоскутов Р.И. Рост и развитие древесных растений рода *Caragana* Lam. семейства Fabaceae Lindl. – бобовые в дендрарии института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (ИЛ СО РАН) // Вестник КГАУ. 2012. №9. С. 74–77. <https://doi.org/10.15372/SJFS20150408>.
4. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства Fabaceae–Ariaceae / под ред. А.Л. Буданцева. СПб, 2010. 692 с.
5. Song P., Yang X.Z., Yu J. New chemical compound from *Caragana jubata* (pall.) Poir. // Chemical Research in Chinese Universities. 2010. Vol. 26, no. 4. Pp. 563–566.
6. Чиндяева Л.Н., Киселева Т.И. Сибирские караганы (*Caragana* Fabr.): опыт интродукции и перспективы использования в озеленении Новосибирска // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сборник научных статей по материалам XV международной научно-практической конференции. Барнаул, 2016. С. 284–290.
7. Телятьев В.В. Полезные растения Центральной Сибири. Иркутск, 1985. 383 с.
8. Рыбакова Е.Д., Павлова Л.А., Стреляева А.В. Фармакогностическое изучение листьев и травы караганы гривастой *Caragana jubata* (fabaceae) // Традиционная медицина. 2014. №4. С. 48–51.
9. Артемьева И.А., Молоков В.Д., Зюбр Т.П. и др. Сухие экстракты караганы гривастой и горца птичьего в комплексном лечении герпетического стоматита // International Journal on Immunorehabilitation. 2009. Т. 11, №1. С. 111–112.
10. Дикорастущие полезные растения России / отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. СПб., 2001. 663 с.
11. Беркутенко А.Н., Вирек Э.Г. Лекарственные и пищевые растения Аляски и Дальнего Востока России. Владивосток, 1995. 192 с.
12. Аюшиева С.Ц. Основные группы гепатопротекторных препаратов // Сибирское медицинское обозрение. 2006. Т. 41, №4. С. 10–16.
13. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири. 5-е изд. Новосибирск, 1991.
14. Грыдина Н.М. Лекарственные растения лесов Закаменского района: методическая разработка. Закаменск, 2014. 39 с.
15. Дубровский Н.Г., Намзалов Б.Б., Ооржак А.В., Куулар А.В. Флористико-геоботанические и биоэкологические исследования залежной растительности Тувы // Вестник БГПУ. Биология. 2018. №1. С. 27–43. <https://doi.org/10.18101/2587-7143-2018-1-27-43>.
16. Ооржак А.В., Дубровский Н.Г. К характеристике флористического комплекса залежной растительности Тывы // Вестник БГУ. 2007. Т. 11, №3. С. 169–172.
17. Meng Q., Niu Y., Niu X., Roubin R.H., Hanrahan J.R. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of the genus *Caragana* used in traditional Chinese medicine // Journal of Ethnopharmacology. 2009. Vol. 124, no. 3. Pp. 350–368. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.048>.
18. Zhu L., Xu X. Selective separation of active inhibitors of epidermal growth factor receptor from *Caragana jubata* by molecularly imprinted solid-phase extraction // Journal of Chromatography A. 2003. Vol. 991, no. 2. Pp. 151–158. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00207-3](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00207-3).
19. Lee J.H., Whang K., Lee S.O. Suppression of LPS-induced Inflammatory Responses by ethanolic extracts from *Salix paraplesia* CK Schneid. and *Caragana jubata* (Pall.) Poir. via Inhibition of Akt/NF- κ B Signaling Pathways in RAW264. 7 Cells // Journal of the Korean Society of Food Science. 2016 KFN International Symposium and Annual Meeting. 2016. Pp. 473–473.
20. Shpekina G.A. Flavonoids of *Caragana spinosa* // Chemistry of Natural Compounds. 1990. Vol. 1. P. 95.
21. Polovinko A.E., Yakovlev G.P. Flavonoids of *Caragana pygmaea* // Chemistry of Natural Compounds. 1985. Vol. 2. Pp. 252–253.
22. Белодубровская Г.А. Фармакогностическое и фармакологическое исследование некоторых представителей рода карагана *CARAGANA* LAM.: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Л., 1990. 25 с.
23. Умаров А. Фитохимическое исследование караганы гривастой: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Л., 1976. 20 с.

24. Umarov A., Batyuk V.S., Khaletskii A.M. Flavonols of *Caragana jubata* // Chemistry of Natural Compounds. 1971. Vol. 7, no. 4. Pp. 499–500.
25. Semkina O.A. Ointments, Gels, Liniments, and Creams Containing Phytopreparations // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2005. Vol. 39, no. 7. Pp. 369–374. <https://doi.org/10.1007/s11094-005-0158-0>.
26. Захаров А.М., Боряев. К.И. Поиски растений, содержащих биологически активные соединения, во флоре Средней Азии и Казахстана // Растительные ресурсы. 1968. Т. 2, №1. С. 14–27.
27. Kakorin P.A., Tereshkina O.I., Ramenskaya G.V. Potential biological activity and chemical composition of *Caragana jubata* (Pall.) Poir. (Review) // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. Vol. 52, no. 6. Pp. 531–535. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1854-x>.
28. Kakorin P.A., Perova I.B., Rybakova E.D., Eller K.I., Ramenskaya G.V., Pavlova L.A., Teselkin Yu.O. Biologically Active Compounds in Aqueous Extracts of *Caragana jubata* (Pall.) Poir. // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. Vol. 51. Pp. 1014–1020. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1731-7>.
29. Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Zybkin A.V. et al. Effect of an Extractant on the Composition of the Lipophilic Constituents of the Extracts of *Rhodiola rosea* L. and on the Extracts' Activity // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2022. Vol. 48, no. 7. Pp. 1461–1469. <https://doi.org/10.1134/S1068162022070147>.
30. Shcherbakov D., Baev D., Kalinin M., Dalinger A., Chirkova V., Belenkaya S., Vatsadze S. Design and evaluation of bispidine-based SARS-CoV-2 main protease inhibitors // ACS medicinal chemistry letters. 2021. Vol. 13, no. 1. Pp. 140–147. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c00299>.

Поступила в редакцию 30 октября 2023 г.

После переработки 12 февраля 2024 г.

Принята к публикации 10 октября 2024 г.

Kukina T.P.¹, Yelshin I.A.¹, Sal'nikova O.I.¹, Kolosov P.V.², Khashchuluun S.³, Badmaarag B.³, Chimidtsereen S.³, Erdenezayaa O.³, Sandag Ts.³, Karakay D.A.¹, Pukhnacheva M.A.¹, Nefedov A.A.¹, Chirkova V.Yu.², Belenkaya S.V.², Shcherbakov D.N.^{2,4} COMPOSITION OF LIPOPHILIC COMPONENTS OF *CARAGANA JUBATA* (PALL.) POIR. AND INHIBITORY ACTIVITY AGAINST THE MAIN PROTEASE OF SARS-COV-2

¹ N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry SB RAS, Lavrentyeva ave., 9, Novosibirsk, 630090, Russia, kukina@nioch.nsc.ru

² Altai State University, Lenina ave., 61, Barnaul, 656049, Russia

³ Mongolian National University of Medical Sciences, S. Zorig Ave., 3, Ulaanbaatar, 14210, Mongolia

⁴ Federal Budgetary Institution of Science, State Research Center of Virology and Biotechnology Vector of Rospotrebnadzor, Koltisovo, Novosibirsk Region, 630559, Russia

The composition of the lipophilic components of the *Caragana jubata* (Pall.) Poir. was studied. Acid and neutral components were identified using gas-liquid chromatography with mass spectrometric detection. Hexane and methyl tert-butyl ether (MTBE), which has all the advantages of diethyl ether, but is devoid of its disadvantages, were used as the raw material extractants. As a result, comparison with databases triterpene, phenolcarboxylic and aliphatic acids with a chain length of 8 to 30 carbon atoms, including saturated, unsaturated and dibasic acids were discovered. More than 200 triterpene and aliphatic components of the unsaponifiable residue and acid fractions have been identified. Previously, unsaponifiable residues and acids of lipophilic extracts were practically not studied. Only components of water and alcohols extracts of the genus *Caragana* have been studied in detail. For bioactivity testing, 20 samples of the whole extracts with various solvents were prepared. Hexane, MTBE, MTBE after extraction with hexane, ethanol, water, aqueous ethanol 70%, aqueous ethanol 40%, ethanol after extraction with hexane and MTBE, water after extraction with hexane, MTBE and ethanol were used. The only of the studied samples shows inhibitory activity against the main protease of SARS-CoV-2. It was extract obtained by MTBE after extraction with hexane.

Keywords: *Caragana jubata* (Pall.) Poir., extractive substances, methyl-tert-butyl ether, phenolic acids, unsaponifiable residue, 3CLpro, SARS-CoV-2.

For citing: Kukina T.P., Yelshin I.A., Sal'nikova O.I., Kolosov P.V., Khashchuluun S., Badmaarag B., Chimidtsereen S., Erdenezayaa O., Sandag Ts., Karakay D.A., Bondareva M.A., Nefedov A.A., Chirkova V.Yu., Belenkaya S.V., Shcherbakov D.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 4, pp. 333–343. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240413866.

References

1. Bhardwaj P.K., Kaur J., Sobti R.C., Ahuja P.S., Kumar S. *Gene*, 2011, vol. 483, no. 1, pp. 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.05.014>.
2. Pavlova P.A. *Vestnik AGAU*, 2015, no. 5, pp. 95–99. (in Russ.).
3. Loskutov R.I. *Vestnik KGAU*, 2012, no. 9, pp. 74–77. <https://doi.org/10.15372/SJFS20150408>. (in Russ.).
4. *Rastitel'nyye resursy Rossii. Dikorastushchiye tsvetkovyye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost'. T. 3. Semeystva Fabaceae-Apiacea* [Plant resources of Russia. Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Vol. 3. Families Fabaceae-Apiacea], ed. A.L. Budantsev. St. Petersburg, 2010, 692 p. (in Russ.).
5. Song P., Yang X.Z., Yu J. *Chemical Research in Chinese Universities*, 2010, vol. 26, no. 4, pp. 563–566.
6. Chindyayeva L.N., Kiseleva T.I. *Problemy botaniki Yuzhnoy Sibiri i Mongolii: sbornik nauchnykh statey po materialam XV mezhduнародной nauchno-prakticheskoy konferentsii*. [Problems of botany of Southern Siberia and Mongolia: collection of scientific articles based on the materials of the XV international scientific and practical conference]. Barnaul, 2016, pp. 284–290. (in Russ.).
7. Telyat'yev V.V. *Poleznyye rasteniya Tsentral'noy Sibiri*. [Useful plants of Central Siberia]. Irkutsk, 1985, 383 p. (in Russ.).
8. Rybakova Ye.D., Pavlova L.A., Strelyayeva A.V. *Traditsionnaya meditsina*, 2014, no. 4, pp. 48–51. (in Russ.).
9. Artem'yeva I.A., Molokov V.D., Zyubr T.P. i dr. *International Journal on Immunorehabilitation*, 2009, vol. 11, no. 1, pp. 111–112. (in Russ.).
10. *Dikorastushchiye poleznyye rasteniya Rossii* [Wild useful plants of Russia], ed. A.L. Budantsev, Ye.Ye. Lesiovskaya. St. Petersburg, 2001, 663 p. (in Russ.).
11. Berkutenko A.N., Virek E.G. *Lekarstvennyye i pishchevyye rasteniya Alyaski i Dal'nego Vostoka Rossii*. [Medicinal and food plants of Alaska and the Russian Far East]. Vladivostok, 1995, 192 p. (in Russ.).
12. Ayushiyeva S.Ts. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye*, 2006, vol. 41, no. 4, pp. 10–16. (in Russ.).
13. Minayeva V.G. *Lekarstvennyye rasteniya Sibiri. 5-ye izd.* [Medicinal plants of Siberia. 5th ed.]. Novosibirsk, 1991. (in Russ.).
14. Grydina N.M. *Lekarstvennyye rasteniya lesov Zakamenskogo rayona: metodicheskaya razrabotka*. [Medicinal plants of the forests of Zakamensk district: methodological development]. Zakamensk, 2014, 39 p. (in Russ.).
15. Dubrovskiy N.G., Namzalov B.B., Oorzhak A.V., Kuular A.V. *Vestnik BGPU. Biologiya*, 2018, no. 1, pp. 27–43. <https://doi.org/10.18101/2587-7143-2018-1-27-43>. (in Russ.).
16. Oorzhak A.V., Dubrovskiy N.G. *Vestnik BGU*, 2007, vol. 11, no. 3, pp. 169–172. (in Russ.).
17. Meng Q., Niu Y., Niu X., Roubin R.H., Hanrahan J.R. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, vol. 124, no. 3, pp. 350–368. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.048>.
18. Zhu L., Xu X. *Journal of Chromatography A*, 2003, vol. 991, no. 2, pp. 151–158. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00207-3](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00207-3).
19. Lee J.H., Whang K., Lee S.O. *Journal of the Korean Society of Food Science. 2016 KFN International Symposium and Annual Meeting*, 2016, pp. 473–473.
20. Shpekina G.A. *Chemistry of Natural Compounds*, 1990, vol. 1, p. 95.
21. Polovinko A.E., Yakovlev G.P. *Chemistry of Natural Compounds*, 1985, vol. 2, pp. 252–253.
22. Belodubrovskaya G.A. *Farmakognosticheskoye i farmakologicheskoye issledovaniye nekotorykh predstaviteley roda karagana CARAGANA LAM.: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [harmacognostic and pharmacological study of some representatives of the genus Caragana CARAGANA LAM.: author's abstract. diss. ... candidate of pharmaceutical sciences]. Leningrad, 1990, 25 p. (in Russ.).
23. Umarov A. *Fitokhimicheskoye issledovaniye karagany grivastoy: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [Phytochemical study of Caragana jubata: author's abstract. diss. ... candidate of pharmaceutical sciences]. Leningrad, 1976, 20 p. (in Russ.).
24. Umarov A., Batyuk V.S., Khaletskii A.M. *Chemistry of Natural Compounds*, 1971, vol. 7, no. 4, pp. 499–500.
25. Semkina O.A. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2005, vol. 39, no. 7, pp. 369–374. <https://doi.org/10.1007/s11094-005-0158-0>.
26. Zakharov A.M., Boryayev. K.I. *Rastitel'nyye resursy*, 1968, vol. 2, no. 1, pp. 14–27. (in Russ.).
27. Kakorin P.A., Tereshkina O.I., Ramenskaya G.V. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, vol. 52, no. 6, pp. 531–535. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1854-x>.
28. Kakorin P.A., Perova I.B., Rybakova E.D., Eller K.I., Ramenskaya G.V., Pavlova L.A., Teselkin Yu.O. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, vol. 51, pp. 1014–1020. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1731-7>.
29. Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Zybina A.V. et al. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2022, vol. 48, no. 7, pp. 1461–1469. <https://doi.org/10.1134/S1068162022070147>.
30. Shcherbakov D., Baev D., Kalinin M., Dalinger A., Chirkova V., Belenkaya S., Vatsadze S. *ACS medicinal chemistry letters*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 140–147. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c00299>.

Received October 30, 2023

Revised February 12, 2024

Accepted October 10, 2024

Сведения об авторах

Куккина Татьяна Петровна – старший научный сотрудник, доцент, kukina@nioch.nsc.ru

Елишин Иван Александрович – аспирант, populusn@yandex.ru

Сальникова Ольга Иосифовна – ведущий инженер, olga@nioch.nsc.ru

Колосов Петр Владимирович – кандидат химических наук, научный сотрудник, petro.kolosov@gmail.com

Хашчулуун Сарантунгалаг – магистр (медицина) науки, khashchuluun@mnumns.edu.mn

Бадмаараг Болормаа – магистр (медицина) науки, badmaarag@mnumns.edu.mn

Чимидцэрэн Соодой – MD, Ph.D., доцент, chimidtseren@mnumns.edu.mn

Эрдэнэзаяа Одхуу – MD, Ph.D., erdenezaya@mnumns.edu.mn

Сандаг Цогтсайхан – MD, Ph.D., профессор, Tsogtsaikhan.s@mnumns.edu.mn

Каракай Дарья Александровна – младший научный сотрудник, karakay@nioch.nsc.ru

Бондарева Мария Александровна – инженер 2 категории, bondareva@nioch.nsc.ru

Нефедов Андрей Алексеевич – старший научный сотрудник группы масс-спектрометрии Центра спектральных исследований, nefyodov@nioch.nsc.ru

Чиркова Варвара Юрьевна – специалист по УМР кафедры физико-химической биологии и биотехнологии, varvara.chirkova@gmail.com

Беленькая Светлана Валерьевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник, belenkaya.sveta@gmail.com

Щербаков Дмитрий Николаевич – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, scherbakov_dn@vector.nsc.ru

Information about authors

Kukina Tatyana Petrovna – senior researcher, associate professor, kukina@nioch.nsc.ru

Elshin Ivan Aleksandrovich – graduate student, populusn@yandex.ru

Salnikova Olga Iosifovna – leading engineer, olga@nioch.nsc.ru

Kolosov Petr Vladimirovich – Candidate of Chemical Sciences, researcher, petro.kolosov@gmail.com

Khashchuluun Sarantungalag – Master of Science (Medicine), khashchuluun@mnumns.edu.mn

Badmaarag Bolormaa – Master of Science (Medicine), badmaarag@mnumns.edu.mn

Chimidtseren Soodoy – MD, Ph.D., Associate Professor, chimidtseren@mnumns.edu.mn

Erdenezayaa Odhuu – MD, Ph.D., erdenezaya@mnumns.edu.mn

Sandag Tsogtsaikhan – MD, Ph.D., professor, Tsogtsaikhan.s@mnumns.edu.mn

Karakay Darya Aleksandrovna – junior research fellow, karakay@nioch.nsc.ru

Bondareva Maria Aleksandrovna – 2nd category engineer, bondareva@nioch.nsc.ru

Nefedov Andrey Alekseevich – Senior Researcher, Mass Spectrometry Group, Spectral Research Center, nefyodov@nioch.nsc.ru

Chirkova Varvara Yuryevna – Research and Methodology Specialist, Department of Physicochemical Biology and Biotechnology, varvara.chirkova@gmail.com

Belenkaya Svetlana Valerievna – candidate of biological sciences, research fellow, belenkaya.sveta@gmail.com

Shcherbakov Dmitry Nikolaevich – candidate of biological sciences, head of the laboratory, scherbakov_dn@vector.nsc.ru