

Е.Г. ПОПОВ¹, Л.В. КУХАРЕВА¹, Т.В. ГИЛЬ¹, Б.Х. НИНЬ², А.Н. ЛУУ-ДАМ³, В.В. ТИТОК¹

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ РАСТЕНИЯ ЖЕЛЕЗНИЦА ИССОПОЛИСТНАЯ (*Sideritis hyssopifolia* L.) ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Институт морской биохимии Академии наук и технологий Вьетнама, Вьетнам, Ханой

³Национальный музей природы Вьетнама, Вьетнам, Ханой

В работе представлены результаты ВЭЖХ-исследования биохимического состава надземной биомассы перспективного лекарственного растения – железницы иссополистной (*Sideritis hyssopifolia* L.) собранной в ЦБС НАН Беларуси на стадиях ВВСН 30...39, в ней выявлены обладающие ценными свойствами биологически активные вещества (БАВ, оказывающие противовоспалительное, антимикробное, тонизирующее действие и другие). Раскрыт высокий фармакологический потенциал *S. hyssopifolia*, как источника сырья для производства комплексных препаратов ранозаживляющего действия.

Введение. Среди растений особое внимание в настоящее время привлекают продуценты биоактивных вторичных метаболитов, которые оказывают положительные эффекты на активность организма млекопитающих, и могут быть донорами лекарственного растительного сырья (ЛРС) [1, 2]. Таковыми в коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС НАНБ) являются и представители рода Железница (*Sideritis*) из семейства Яснотковые (*Lamiaceae*). Название рода происходит из античных времён – такое название давали растениям, применение которых помогало заживлению и рубцеванию язв и ран нанесённых железным оружием (мечи, копья, ножи, топоры и прочее). В странах в Малой Азии и Средиземноморья у населения популярны тонизирующие "горные чаи" (отвары и настои) из листьев и соцветий *Sideritis*, которые пьют при тошноте, рвоте, заболеваниях лёгких, используют как противохолерические, гастропротекторные и противоанемические средства. Ареалы видов рода *Sideritis* позиционированы в Евразии, а также в западной и центральной областях Северной Америки. Это однолетние и многолетние травы или полукустарники, сильно волосистые или войлочные [3]. По имеющейся информации [3-18] главными биоактивными веществами у других изучавшихся видов растений рода Железница являются разные терпеноиды (эфирные масла*), органические кислоты, стеролы, кумарины, агликоны и гликозиды флавоноидов, которые обладают антимикробным, антиспазматическим, антиоксидантным, анальгетическим, противовоспалительным и противоопухолевым действием.

Материалы и методы исследования. Объект биохимических исследований – железница иссополистная (*Sideritis hyssopifolia* L., малоизученное перспективное растение) [5]. Целью работы явилось исследование компонентного состава нелетучих субстанций в ЛРС (надземная масса) *S. hyssopifolia* культивируемой в ЦБС НАНБ. Соответственно, в работе решались задачи анализа ЛРС методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и оценка наличия в нём биологически активных веществ (БАВ). Сбор надземной биомассы растения осуществлялся в фазу вегетации непосредственно перед бутонизацией (ВВСН* 30...39).

*Эфирные масла (ЭМ) – это комплекс соединений состоящий в основном из моно-, сескви- и ди- терпенов; они известны своими положительными фармакологическими эффектами – в низких концентрациях ЭМ оказывают при вдыхании антимикробное и противовоспалительное действия, а некоторые из них также могут использоваться в ароматерапии [14].

*Универсальная шкала десятичного кода стадий развития растений (сокращённо от Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie, предложена сотрудниками BASF, Bayer, Ciba-Geigy и Hoechst). [19].

При получении материала для анализа компонентов в экстрактах ЛРС мы руководствовались требованиями ГОСТ Р 4.1.1672-03 [6, С.127]. В результате был отработан следующий методический подход: надземная биомасса высушивается при $T=30..40^{\circ}\text{C}$, измельчается на лабораторной мельнице IKA Tube Mill (ФРГ) в порошок; сухой порошок экстрагируется 70 %-ным этанолом (30% H_2O) при соотношении сырье/экстрагент = 1 : 50, в ультразвуковой водяной бане RK103H (Bandelin Sonorex, ФРГ [условия: 35 кГц, 60 мин, 50°C , $I = 1 \text{ A}$; $U = 140/560 \text{ Вт}$]); экстракт переносится в стеклянную тару с герметической крышкой и хранится при $0..4^{\circ}\text{C}$ в темноте до использования в анализах. ВЭЖХ-анализ компонентов экстрактов с использованием для идентификации маркеров-стандартов проводили на жидкостном хроматографе высокого давления Аджилент-1260 (Agilent, США) с использованием высокоразрешающей хроматографической колонки Zorbax Eclipse Plus C18. Предварительно экстракты центрифугировали (15000 g, 3 мин, $t 20^{\circ}\text{C}$) и пропускали через фильтры PTFE (Agilent, ФРГ) с диаметром пор 0,2 мкм, затем вносили в виалы, откуда отбор в прибор проводился автосэмплером. Хроматографию осуществляли в градиентном режиме стандартной методике (инъекционный объем проб = 10 мкл, температура колонки 30°C , скорость 2 мл/мин, элюенты с добавлением муравьиной кислоты [5 мл/л] – вода/ацетонитрил от 95 : 5 в начале цикла {0'} → до 5 : 95 к окончанию цикла {8'}). Регистрация биохимических субстанций в пробах экстрактов растительного сырья проведена диодно-матричным детектором DAD G4212B (Agilent-1260, США) при длине волны 254 нм vs 560 нм (в milli Absorbance Units [mAU]).

Результаты и их обсуждение.

В ходе проведения ВЭЖХ-анализов в биохимическом составе ЛРС *S. hyssopifolia* идентифицированы несколько десятков БАВ (см. рисунок), которые, как известно [1, 6-12, 24], относятся по химической природе к фенольным кислотам, флавоноидам, фенолпропаноидам, антрахинонам, лигнанам и их метаболитическим производным.

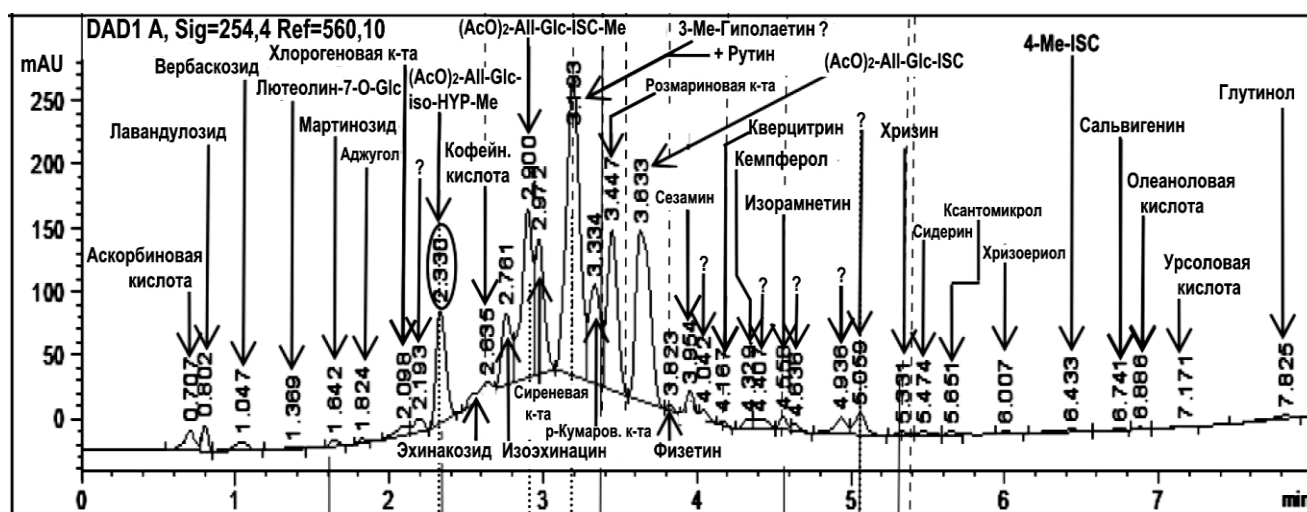


Рисунок – Хроматограмма экстракта ЛРС железницы иссополистной (*Sideritis hyssopifolia* L.)

Обозначения:

- (AcO)₂-All-Glc-iso-HYP-Me – 4'-О-метил-изогиополактин 7-О-[6''-О-ацетил-β-D-аллопиранозил-(1→2)]-β-D-глюкопиранозид;
- (AcO)₂-All-Glc-ISC-Me – 4'-О-метил-изоскутеллареин 7-О-[6''-О-ацетил-β-D-аллопиранозил-(1→2)]-β-D-глюкопиранозид;
- (AcO)₂-All-Glc-ISC – изоскутеллареин 7-О-[6''-О-ацетил-β-D-аллопиранозил-(1→2)]-β-D-глюкопиранозид;
- 4-Me-ISC – 4'-О-метил-изоскутеллареин, ? – не идентифицировано.

Имеющиеся в научной литературе сведения о близкородственных видах *Sideritis* и других растениях, а также о медицинском использовании входящих в их состав компонентов [1-18, 20-31], позволяют дать оценку фармакологического потенциала БАВ, обнаруженных в железнице иссополистной, которую кратко излагаем далее.

Так, среди органических фенольных кислот (в т. ч., оксикоричных [ОКК] и их производных), которые синтезирует это растение, назовём особо значимые: кофейная [КК], кумаровая, сиреневая, розмариновая [РК], хлорогеновая [ХК], эхинакозид [Э]) – биологическая активность их

проявляется в антимикробном и противовоспалительном действии, а также как стимуляторов иммунитета организма [3-6]. Заслуживают внимания и иные их эффекты. Например, **КК**, как антиоксидант, способна защищать клетки от повреждения свободными радикалами и рассматривается как важный "антифактор" клеточного старения, метаболических нарушений, сердечнососудистых и нейродегенеративных заболеваний, злокачественных опухолей, а в 2009 г. обнаружено, что **КК** стимулирует выработку инсулина β -клетками поджелудочной железы при сахарном диабете II-го типа, существенно сокращает риск образования тромбов и снижает содержание триглицеридов в крови, как у животных, так и у людей с атеросклерозом, то есть способствует оздоровлению кровеносных сосудов [24, 25]. **ПК** опосредованно, по механизму антиоксидации с противовоспалительным эффектом, воздействует на кровеносные сосуды и "смягчает" эритроцитоз (распад красных кровеносных телец) посредством ингибирования С3-конвертазы (важного белка в "Комплемент-системе" крови). Кроме этого, приём **ПК** смягчает симптомы аллергии (так как подавляет синтез 5-гидрокси-эйкозатетраеновой кислоты [компонент "метаболической цепи ω -6"] путём конкурентного ингибирования 5-липоксигеназы и переносчиков органических анионов, а именно, SLC22A6 и SLC22A8, с показателями K_i в $0,35 \pm 0,06$ мкМ и $0,55 \pm 0,25$ мкМ, соответственно) – стандартная доза составляет $200 \div 300$ мг активной **ПК** перорально [26, 27]. **ХК**, поступая с пищей, в организме человека оказывает гипохолестеринемический, гипогликемический, гепатопротекторный, противоопухолевый эффекты [25, 28]. У некоторых **ОКК** детектировано желчегонное действие, а кумаровая кислота обладает туберкуло-статическим действием [3, 4]. **Э** проявляет положительные биоактивности: нейропротекторная (препятствуют развитию нейродегенеративных болезней Паркинсона и Альцгеймера); антидиабетическая, гепато-, кардио- протекторные; он перспективен в составе препаратов улучшающих тестикулярную функцию (сперматогенез); к достоинствам **Э** относится и то, что он оказывает антиоксидантное, противоопухолевое, антимикробное, антиостеопорозное и антиатеросклеротическое действия [22].

Флавоноиды (Ф) – гетероароматические соединения полифенольной природы, имеющие фенил-хрома(е)новую структуру, которая состоит из двух бензольных колец (А и В), соединённых между собой пирановым или пиррольным гетероциклом (кольцо С) [1]. **Ф** и их гликозиды проявляют разной степени в зависимости от конкретного компаунда эффекты – антиоксидантный; антисклеротический; антигистаминный (противовоспалительный); иммуностимулирующий; антимикробный; нейро-, гепато- и кардио- протекторный. Однако следует помнить, что суммарная суточная норма потребления **Ф** должна находиться в пределах $3 \div 10$ мг/кг веса тела и при дозах ≥ 100 мг/кг они токсичны (повреждают печень). **Ф** используются в разработке препаратов для профилактики развития тромбозов и ревматоидных заболеваний. Дело в том, что **Ф** улучшают реологические свойства крови (уменьшают её вязкость, повышают эластичность эритроцитов, уменьшают агрегацию эритроцитов и тромбоцитов, способствуют десорбции осажённого на стенках сосудов холестерина). Препараты на основе **Ф** снижают артериальное давление, уменьшают головную боль и шум в ушах. Благодаря мощному антиоксидантному действию, их широко используют, как средство для профилактики канцерогенеза и процессов старения организма [1, 22]. Среди идентифицируемых в железнице **Ф** и их гликозидов назовём такие, как гиполаэтины (производные сидеритофлавона), скутеллареины, [изо]-эхинацин, апигенин, кемпферол, ксантомикрол, рутин, сальвигенин, физетин, хризин, хриз[о]эриол, цирзимаритин, а также фенилпропаноиды – вербаскозид, лавандуло[фолио]зид, мартинозид и другие, которые являются весьма ценными лекарственными веществами [20, 22, 24]: они укрепляют иммунитет, предотвращают атеросклероз, поддерживая здоровье стенок кровеносных сосудов (в том числе капилляров), тонизируют вены (снимают спазм сосудов, обладают противоотёчным действием); оказывают противоаллергический и противовоспалительный гастро- и гепато- протекторный эффекты; предупреждают образования опухолей; обладают антигипоксическим действием [1, 15, 18]. Используемый в лечении полиартрита **Ф** [изо]-эхинацин (апигенин-7-О-[6"-О-4-кумароил]- β -глюкопиранозид) оказывает иммуностимулирующее и противовоспалительное действие, повышая фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов; стимулируя продукцию интерлейкина-1, индуцируя трансформацию В-лимфоцитов в клетки, усиливая функцию Т-хелперов, стимулируя

костномозговое кроветворение, в результате чего увеличивается количество лейкоцитов и клеток ретикулоэндотелиальной системы [1, 23, 29].

Сезамин (С) железницы – это лигнан (построен из двух C₆-C₃ фенилпропановых фрагментов, между собой соединенных углеродами боковых цепей) у которого выявлен целый спектр активностей, используемых в медицине [15]: гепатопротекторная (при воздействии алкоголя и тетрахлорметана); кардиопротекторная (снижает кровяное давление и, соответственно, частоту инфарктов миокарда); ангиостимулирующая (ускоряет рост кровеносных сосудов [капилляров]); нейропротекторная (против церебральной ишемии); бактерицидная; кроме того, он повышает содержание токоферола в крови. К полезным эффектам С относится и то, что, ингибируя дельта-5-десатуразу (ключевой фермент биосинтеза арахидоновой кислоты), он подавляет образование воспалительных промедиаторов. Поступающий с пищей С преобразуется микробиотой кишечника в энтеродиол и энтеролактон (защищающие против рака молочной железы) [16, 17].

Сидерин (4,7-диметокси-5-метил-кумарин), синтезируемый железницей – это биологически активный антрахинон, обладающий гипотензивным и противокоагулянтным действиями; он проявляет также антибактериальный и противогрибковый эффекты [3-5, 14, 31].

Закключение. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в экстракте наземной биомассы исследуемого нами растения железницы иссополистной (*Sideritis hyssopifolia* L.) идентифицированы более 30 компонентов, относимых к различным по химической природе классам (органические кислоты [кофейная, кумаровая, розмариновая, сиреневая, феруловая, олеаноловая, урсоловая]; флавоноиды; фенилпропаноиды и другие, являющихся "вторичными" метаболитами). Анализ имеющейся по этим субстанциям информации показывает, что они обладают антимикробным, противовоспалительным, ранозаживляющим действием, а также могут проявлять и комплекс иных медицинских эффектов [1, 4-18, 20-31].

Таким образом, проведенное исследование подтверждает, что выбранный объект *S. hyssopifolia* обладает интересным фармакологическим потенциалом, так как он является перспективным продуцентом биологически активных веществ, которые потенциально можно использовать в разработке и производстве оптимизированных рецептур лечебных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант БРФФИ № Б19В-007).

Литература

1. Тараховский Ю.С. и др. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. – Пушино: Synchronbook, 2013. – 310 с.
2. Попов Е.Г. и др. // Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира : Материалы междунард. научн. конф., посвящённой 85-летию Центрального ботанического сада НАН Беларуси (Минск, 6-8 июня 2017 г.). – Минск : "Медисонт", 2017. Ч. 2. С. 299–302.
3. Bojovic D. et al. // Serbian J. Exp. Clin. Res. 2011. Vol. 12, № 3. P. 109–122.
4. González-Burgos E. et al. // J. Ethnopharmacol. 2011. Vol. 135, № 2. P. 209–225.
5. Adzet T. et al. // Ess. Oil Res. 1990. Vol. 2, № 3. P. 151–153.
6. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора МЗ России, 2004. – 400 с.
7. Janeska B. et al. // Acta Pharm. 2007. Vol. 57, № 3. P. 371–377.
8. Kara M. et al. // J. Food Nutr Res. 2014. Vol. 2, № 5. P. 258–262.
9. Menković N. et al. // Rec. Nat. Prod. 2013. Vol. 7, № 3. P. 161–168.
10. Petreska J. et al. // Nat. Prod. Commun. 2011. Vol. 6, № 1. P. 21–30.
11. Petreska J. et al. // Nat. Prod. Commun. 2011. Vol. 6, № 9. P. 1305–1314.
12. Palomino O.M. // J. Chromatogr. A. 1996. Vol. 731, № 1-2. P. 103–108.
13. Rodriguez-Lyon M.L. et al. // Magnetic Resonance Chem. 2000. Vol. 38, № 8. P. 684–687.
14. Aligiannis N. et al. // J. Agric. Food Chem. 2001 Vol. 49, № 2. P. 811–815.
15. Akimoto K. / K. Akimoto [et al.] // Annals Nutr. Metab. 1993. Vol. 37, № 4. P. 218–224.

16. Dar A.A. et al. // Bioorganic Chem. 2013. Vol. 50, № 8. P. 1–10.
17. Bournival J. et al. // Rejuvenation Res. 2012. Vol. 15, № 3. P. 322–333.
18. Fattahi M. et al. // Mini Rev. Med. Chem. 2014. Vol. 14, № 9. P. 725–733.
19. Hack H. et al. // Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 1992. Vol. 44, № 12. P. 265–270.
20. Ferrandiz M., et al. // Agents Actions. 1991. Vol. 32, № 2. P. 283–288.
21. Shin M.-S. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2017. Vol. 27, № 14. P. 3076–3080.
22. Vauzour D. et al. // Genes Nutr. 2008. Vol. 3, № 3-4. P. 115–126.
23. Liu J. et al. // Molecules. 2018. Vol. 23, № 5. P. 1213–1236.
24. Chu H. et al. // Pharmacognosy Magazine. 2017. Vol. 13, № 50. P. 230–235.
25. Rajendra Prasad N. et al. // Mol. Cell. Biochem. 2011. Vol. 349, № 1-2. P. 11–19.
25. Wang J. et al. // Molecules. 2019. Vol. 24, № 1. P. 155–177.
27. Кухарева Л.В. и др. // Вестник ФФИ. 2016. № 4. С. 21–31.
28. Kim G.D. et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. Vol. 99, №5. – P. 2083–2092.
29. Левуцкий А.П. и др. // Мікробіологія і біотехнологія. 2010. № 2. С. 6–20.
30. Williamson G. // Nutr. Bull. 2017. Vol. 42, № 3. P. 226–235.
31. Li Q et al. // Drug Discov. Today. 2010. Vol. 15, № 23-24. P. 1052–1057.

Аннотация

В результате ВЭЖХ-исследования биохимического состава надземной биомассы железницы иссополистной (*Sideritis hyssopifolia* L.), собранного в ЦБС НАН Беларуси на стадиях ВВСН 30...39, выявлены вещества полифенольной природы, обладающие ценной биологическими качествами (стимуляция обмена веществ, антимикробное противовоспалительное действие, активация иммунной системы), что открывает перспективы использования данного растения в разработке комплексных неогаленовых препаратов ранозаживляющего действия.

Ключевые слова: железница иссополистная, биоактивные вещества, лекарственный потенциал

E.H. POPOFF, L.V. KUHAREVA, T.V. GIL, B.K. NINH, A.N. LUU-DAM, V.V. TITOK

PHARMACOLOGICAL POTENTIAL OF HYSSOP-LEAVED IRONWORT (*Sideritis hyssopifolia* L.) FROM NAT. AC. SCI. OF BELARUS CENTRAL BOTANICAL GARDEN COLLECTION

Summary

ВЭЖХ-анализ биохимического состава надземной биомассы железницы иссополистной (*Sideritis hyssopifolia* L.), собранного в ЦБС НАН Беларуси на стадиях ВВСН 30...39, выявил вещества полифенольной природы, обладающие ценной биологическими качествами (стимуляция обмена веществ, антимикробное противовоспалительное действие, активация иммунной системы), что открывает перспективы использования данного растения в разработке комплексных неогаленовых препаратов ранозаживляющего действия.

A comparative HPLC-analysis was made of ethanol extracts from vegetative green masses of the *Sideritis hyssopifolia* L. collected in Central Botanical Garden (Ac. Sci. of Belarus, Minsk) at stages of ВВСН 30...39. The results revealed in this plant has a spectra of valuable components among them endowed with biological activities stimulating vitality of human organism, thus testifying its perspectiveness for regenerative medicine as a source of relevant neogalenica complex preparations.

Keywords: *Sideritis hyssopifolia*, bioactive substances, pharmacological potential