

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ *IN VITRO* РАСТЕНИЙ РОДА *LAMIUM* И БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ

Организация: Белорусский государственный медицинский университет

Проектная команда: Терлецкая В.А.¹, Лукашов Р.И.²

1. Аспирант кафедры фармацевтической химии;
2. Кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической химии.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОА – антиоксидантная активность

БАВ – биологически активные вещества

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГКК – гидроксикирничные кислоты

ГФ РБ – Государственная фармакопея Республики Беларусь

ДМСО – диметилсульфоксид

ИМН – изделие медицинского назначения

КО – количественное определение

ЛРС – лекарственное растительное сырье

ОП – оптическая плотность

ТСХ – тонкослойная хроматография

ФС – фенольные соединения

ФСП – фармакопейная статья производителя

ФБР – фосфатный буферный раствор

Фл.з. – флуоресцирующая зона

ЧФС – частная фармакопейная статья

ЧСА – человеческий сывороточный альбумин

ABTS – 2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиозолин-6-сульфокислоты) диаммониевая соль

DMEM – модифицированная по способу Дульбекко среда Игла

DPPH – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил

ВВЕДЕНИЕ

На территории СНГ представлена обширная сырьевая база растений рода *Lamium*. Даные растения перспективны для изучения, так как в экспериментах *in vivo* получены данные о гемостатической [1], гипотензивной, препятствующей субинволюции матки [2], противовирусной [3], седативной [4] активности извлечений из *L.album*; ранозаживляющей [5] и гемостатической [1] активности извлечений из *L.purpureum*; анальгезирующей [6] активности извлечений из *L.galeobdolon*. Биологическая активность *L.maculatum* в данной работе исследована впервые.

В литературе приведены данные о входящих в состав *L.album*, *purpureum*, *maculatum* и *galeobdolon* ФС, флавоноидах, ГКК, иридоидах, однако КО для приведенных видов про-

водилось после экстракции в неодинаковых условиях и различными методами, что не позволяет сравнить растения между собой по содержанию БАВ.

Ранее была исследована цитотоксическая активность *L.album*, экстракт которой проявлял антиплиферативное действие на клетках меланомы мыши и опухолевых клетках легкого. Трава *L.album* входит в состав сборов «При лейкозе», «При кистозе» (Мариславна). Целесообразно расширить перечень изучаемых клеточных линий и провести исследование также для *L.purpureum*, *L. maculatum*, *L. galeobdolon*.

Одним из видов БА является антиоксидантная – способность прерывать цепь радикальных реакций и защищать клетки от повреждения. Сравнительное исследование антиоксидантной активности *L.album*, *purpureum*, *maculatum* и *galeobdolon* и ее зависимости от соотношения этанола и воды в экстрагенте ранее не проводилось.

Для подтверждения целесообразности проведения экспериментов *in vivo* проводится скрининг биологической активности *in silico*. В данной работе использована программа PASS-online, прогнозирующая около 4000 видов активности и применявшаяся для прогнозирования активности веществ растительного происхождения, что подтверждено экспериментально [7].

Согласно концепции 3R Рассела-Берча, предпочтительно использование в экспериментах менее высоко организованных лабораторных животных. Так, острую токсичность растительных экстрактов возможно исследовать на рыбах Zebrafish [8]. Ранее исследование токсичности растений рода *Lamium* не проводилось.

Цель конкурсной работы – проведение комплекса работ по изучению качественного и количественного состава растений рода *Lamium* и примесных видов, биологической активности *in vitro* и *in silico*, токсичности.

Для достижения данной цели планируется решить следующие задачи:

1. Провести сравнительную характеристику качественного состава растений рода *Lamium* и примесных видов методом ТСХ;
2. Определить количественное содержание ФС, флавоноидов, ГКК, иридоидов в водных и водно-спиртовых извлечениях из растений рода *Lamium* спектрофотометрическим методом;
3. Сравнить водные и водно-спиртовые извлечения из растений рода *Lamium* и примесных видов по содержанию индивидуальных БАВ методом ВЭЖХ;
4. Исследовать цитотоксическую активность водно-спиртовых извлечений из растений рода *Lamium* на клеточных культурах в сравнении с доксорубицином и хлорогеновой кислотой;
5. Установить антиоксидантную активность водных и водно-спиртовых извлечений из растений рода *Lamium* спектрофотометрическим методом на моделях DPPH и ABTS;
6. Провести скрининг биологической активности индивидуальных флавоноидов, ГКК, ФС, стероидов растений рода *Lamium* методом компьютерного моделирования;
7. Определить токсичность настоев *L.album*, *L.purpureum* на модели ZFET (Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test) с помощью личинок рыб *Danio rerio*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения данной работы сформулированы следующие выводы:

1. Установлено методом ТСХ наличие рутина в *L.album*, *purpureum*, *maculatum*, *G.hederacea*, *U.dioica*; хлорогеновой кислоты – в *L.album*, *purpureum*, *maculatum*, *galeobdolon*, *G.hederacea*, *U.dioica*; цинарозида – в *L.purpureum* и *G.hederacea*.

2. Наиболее богатые источники ФС – *L.purpureum* (6,15% в 40% экстракте) и *L.maculatum* (5,31%). Лучшей извлекающей способностью обладают водно-спиртовые смеси: этанол 40% (3,85-6,15%). Наиболее богатые источники флавоноидов – *L.purpureum* (3,39% в 70% экстракте) и *L.album* (3,24%). Наибольшей извлекающей способностью обладает этанол 70% (1,44-3,39%). Наиболее богатые источники ГКК – *L.maculatum* (3,13% в 40% экстракте) и *L.purpureum* (2,91%). Наибольшей извлекающей способностью обладают водно-спиртовые смеси: этанол 40% (1,23-3,13%). Наиболее богатые источники иридоидов – *L.purpureum* (5,75% в 70% экстракте) и *L.album* (5,53%). Наибольшей извлекающей способностью обладает этанол 70% (4,01-5,75%).
3. ВЭЖХ-анализ показал, что по содержанию хлорогеновой кислоты лидирует *L.maculatum* (45,8-206,3). Оптимальный экстрагент для хлорогеновой кислоты – этанол 40% (8,4-206,3). Источник с наибольшим содержанием рутина – *L.purpureum* (0-41,139). Максимальна эффективность экстракции рутина этанолом 40% (0-41,139). В извлечениях были идентифицированы кислоты феруловая и транс-феруловая, лютеолин-7-гликозид.
4. *L.purpureum*, *L.maculatum*, *L.galeobdolon* проявляют цитотоксическую активность в исследованном диапазоне концентраций. *L.purpureum* на линии HeLa – до 85%, MeWo – до 78%, Bj-hTERT – до 27%; *L.maculatum* на линии HeLa – до 85%, MeWo – 57%, Bj-hTERT – до 70%; *L.galeobdolon* на линии клеток HeLa – до 84%, MeWo – до 52%, Bj-hTERT – до 56%.
5. Водные и водно-спиртовые извлечения из *L.album*, *L.purpureum*, *L.maculatum*, *L.galeobdolon* демонстрируют высокий уровень антиоксидантной активности на модели ABTS (96,62%-99,94%) и DPPH (72,89-78,82%), что сопоставимо с антиоксидантной активностью 0,01% растворов эталонных антиоксидантов – аскорбиновой кислоты и тролокса.
6. Результаты прогнозирования подтверждают противовирусную, гемостатическую, антигипоксическую, антиоцицептивную активность фенольных соединений и иридоидов рода *Lamium*.
7. Токсичность настоев *L.album*, *L.maculatum* ниже, чем токсичность ДМСО. Выживаемость эмбрионов после инкубирования с настоем *L.purpureum* выше, чем после культивирования с настоем *L.album*. Личинки Zebrafish поглощают компоненты настоев *L.album* и *L.purpureum*: флавоноиды, антоцианы, гидроксикоричные кислоты.

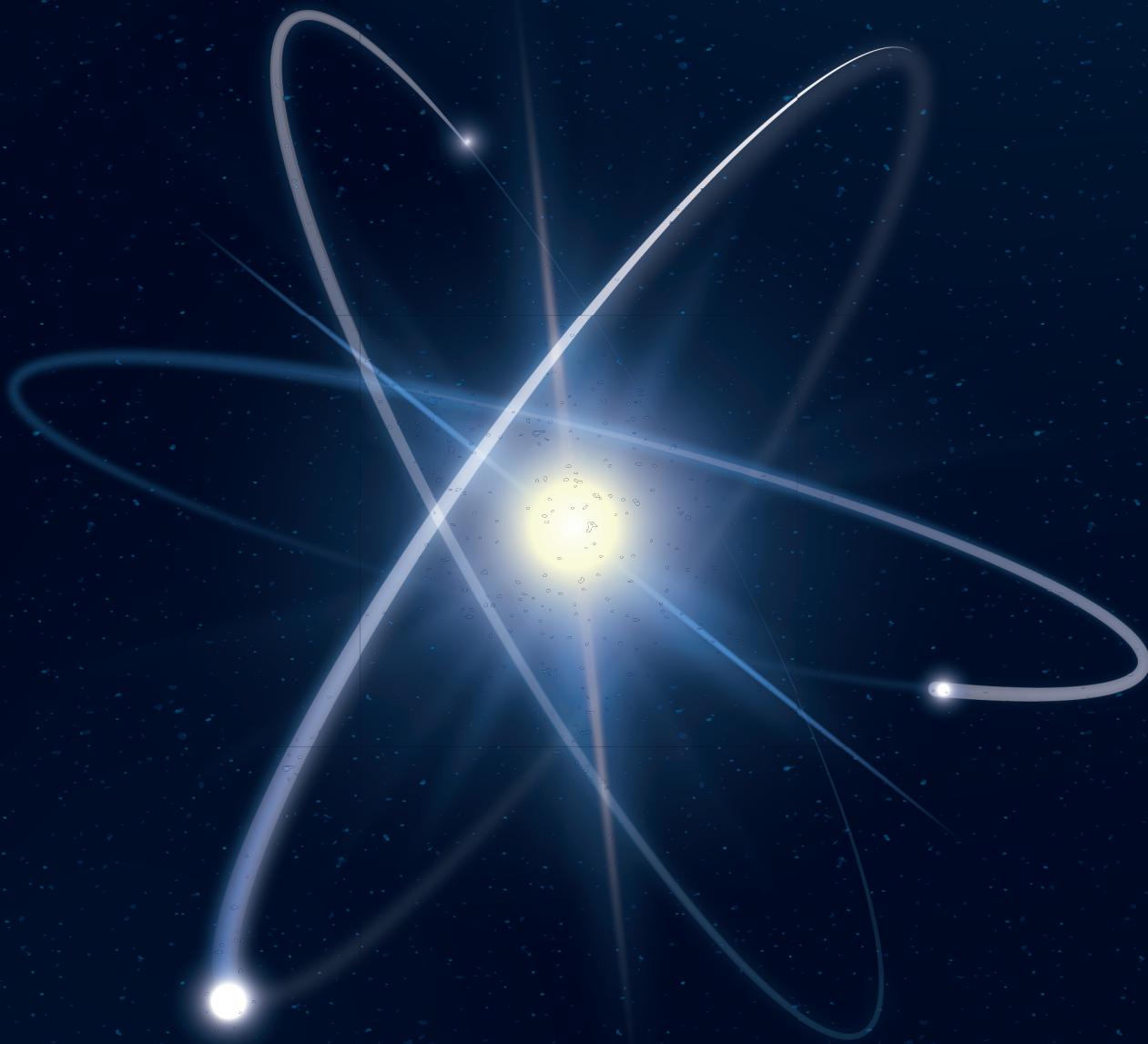
ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ:

1. Bubueanu, C. Haemostatic activity of butanolic extracts of *Lamium album* and *Lamium purpureum* aerial parts / C. Bubueanu, R. Iuksel, M. Panteli // Acta pharmaceutica. – 2019. – №69(3). – P.443–449.
2. Нигматулина, Н.К. Фармакологические свойства настойки белой крапивы, произрастающей в Киргизии, и ее применение в акушерской практике / Н.К. Нигматулина, М.Н. Лехтман, Е.А. Стегайло // Труды Киргизского государственного медицинского института. – 1961. – №13. – С. 239-246.
3. Comparative anti-herpes effects of the chloroform in vitro and in vivo extracts, derived from *Lamium album* / D.Todorov [et al.] // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2013. – №19(2). – P.190-193.
4. Kovaleva, A.M. Research of pharmacological properties of *Lamium album* l. herb complexes / A.M. Kovaleva, A.V. Goncharov, A.V. Ochkur // Ukrainian biopharmaceutical journal. – 2016. – № 3(44). – P.39-42.

5. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource / D.A. Filimonov [et al.] // Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 2014. – № 50 (3). – P. 444-457.
6. Lamiridosins, hepatitis C virus entry inhibitors from Lamium album. / H. Zhang [et al.] // J Nat Prod. – 2009. – № 72(12). – P. 58-62.
7. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource / D.A. Filimonov [et al.] // Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 2014. – № 50 (3). – P. 444-457.
8. Determination of Some Isoquinoline Alkaloids in Extracts Obtained from Selected Plants of the Ranunculaceae, Papaveraceae and Fumarioideae Families by Liquid Chromatography and In Vitro and In Vivo Investigations of Their Cytotoxic Activity / Misiurek J [et al.] // Molecules. – № 208(8). – P.23-33.
9. PASS online [Электронный ресурс]. – Режим доступа: way2drug.com/passonline.html, свободный. – (дата обращения: 06.10.2023).



ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ ШКОЛА
«МЕДИЦИНА МОЛОДАЯ»



Сборник проектов конкурса
Всероссийская научная школа
«МЕДИЦИНА МОЛОДАЯ»



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОНД
РАЗВИТИЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ
ТЕХНОЛОГИЙ ИМ. В.П. ФИЛАТОВА

Москва, 2023