

В. Д. НАЗАРОВА, Е. В. БАКУМОВА

ФЛАВОНОИДЫ РАСТЕНИЯ *LINOSYRIS VILLOSA*

Северо-Казахстанский государственный университет им. М. Козыбаева,
Петропавловск, Казахстан

Аннотация. Статья посвящена фитохимическому изучению растения *Linosyris villosa*. В растении обнаружили 8 веществ флавоноидной природы, включающие агликоны и гликозиды. Из растения получена субстанция «Витин», на основе которой созданы лекарственные формы: мазь, настойка, лейкопластырь и лекарственная пленка. Выделен и идентифицирован агликон мирицетин, являющийся мощным антиоксидантом.

Ключевые слова: флавоноиды, мирицетин, адсорбционная хроматография, биологическая активность, антиоксидантная активность.

Флавоноиды у растений являются активными участниками клеточного обмена, выполняют функции регуляторов роста, развития и репродукции растений. Флавоноиды интересны ученым также ввиду присущего им широкого спектра биологической активности. Они входят в состав многих фитопрепаратов, к которым в настоящее время проявляется пристальное внимание, как к наиболее безопасным лекарственным средствам. Содержание флавоноидов в растениях различно: в среднем от 0,5 до 20 % (цветы софоры японской). В растениях флавоноиды встречаются в виде агликонов и гликозидов. Особенно богаты флавоноидами высшие растения, относящиеся к семействам розоцветных, бобовых, гречишных и астровых. Флавоноидные препараты таят в себе богатые резервы в борьбе за продление жизни человека, так как некоторые из них обладают противоатеросклеротическим и антиоксидантным действиями, замедляющими процессы старения организма. Флавоноиды в организме человека воздействуют, как на ферментные системы, так и иммунные, и обменные процессы, вызывая различные эффекты. Многие ученые утверждают, что широкий спектр биологического действия флавоноидов обусловлен их антиоксидантной активностью. Флавоноиды (кверцетин, мирицетин, кемпферол и рутин) могут не только связывать, но и восстанавливать или окислять ионы металлов переменной валентности, и таким образом, стимулировать или ингибировать свободнорадикальные процессы, протекающие в организме [1].

Взаимосвязь структуры и антиоксидантной активности изучена у большинства флавоноидов, продуцируемых растениями. Установлено, что флавоноиды как полифенолы могут быть «ловушкой» свободных радикалов и тормозить перекисное окисление липидов.

Наиболее активными оказались флавонолы кверцетин, мирицетин и морин, которые ингибируют окисление липидов на 78-83 %. Флавоноиды как антиоксиданты играют важную роль в предупреждении нарушений структуры и функций печени при различной патологии, ускоряя регенерацию и

восстанавливая функциональную активность гепатоцитов, особенно в комплексной терапии острого и хронического гепатита и цирроза печени. В настоящее время в медицинской практике широко применяют флавоноидные препараты в виде различных лекарственных форм: таблетки, мази, настойки, экстракты, порошки, драже и капсулы. Большое значение, на данный момент, придается противовоспалительному действию флавоноидов, с которым, вероятно, связаны их противовоспалительное, ранозаживляющее, жаропонижающее и вяжущее действия.

Привлекают внимание и антимикробные свойства флавоноидов. Так, выявлено отрицательное влияние кверцетина и мирицитина на грамположительные бактерии, флавонов и халконов на стафилококк. Антимикробными свойствами в отношении стафилококков, стрептококков обладают галлокатехин, эпигаллокатехин и окисленная сумма катехинов. Интересными в химическом и биологическом плане оказались изофлавоны, изофлавонолы и флавонолы. Все они в разной степени обладают холестерической, диуретической, гипогликемической активностью. Широкий диапазон терапевтических возможностей флавоноидов позволяет считать их источниками средств общего действия. Флавоноиды обладают ценным свойством быстрой эвакуации и отсутствием кумуляции. Флавоноидные препараты необходимы не только для лечения заболеваний, но и для профилактики сосудистых нарушений у здоровых лиц. Прием флавоноидных препаратов показал хороший эффект при кавернозном туберкулезе в послеоперационный период, при глаукоме и при гиперфункции щитовидной железы.

В последнее время интенсивно изучается антиоксидантная активность флавоноидов. Выделено три основных механизма антиоксидантного действия флавоноидов:

- 1) радикал-утилизирующая активность в отношении АФК и вторичных продуктов перекисидации липидов, реализуемая при непосредственном взаимодействии с биорадикалами;
- 2) хелатирование металлов переменной валентности, участвующих в образовании свободных радикалов, что предотвращает продукцию АФК;
- 3) ингибирование некоторых прооксидантных ферментов и активация других эндогенных антиоксидантов.

Благодаря сравнительно низкому окислительно-восстановительному потенциалу большинство флавоноидов легко вовлекаются в одноэлектронные реакции с различными радикалами, как неорганическими, так и органическими. К первым относятся реакции флавоноидов с радикалами диоксида азота и супероксид аниона, гидроксильным радикалом. Кроме того, флавоноиды способны взаимодействовать с органическими пероксильными и алкоксильными радикалами различных соединений, а также радикалами ароматических аминокислот, аскорбата, α -токоферола. Количественная оценка антирадикальной активности отдельных флавоноидов, проведенная на основании анализа констант скорости k реакций флавоноидов с АФК (метод конкурентной кинетики), позволяет установить связь между структурой и антиоксидантной активностью флавоноидов [2].

Например, сравнение значений k для рутина, лютеолина, эпикатехина, дигидрокверцетина и кверцетина, имеющих гидроксильные группы в о-положении позволяет сделать вывод о том, что наибольший вклад в антирадикальную активность флавоноидов в отношении анион-радикала кислорода вносит катехольная группа кольца В. Сравнение кверцетина с лютеолином и рутином дает возможность заключить, что наличие гидроксила в положении C_3 также значительно повышает антирадикальную активность флавоноидов. Известно, что молекулы флавонолов и дигидрофлавонолов, имеющие гидроксил при C_3 , плоские, тогда как у флавонов и дигидрофлавонов кольцо В закручено по отношению к остальной части молекулы.

Плоская конфигурация молекулы способствует делокализации неспаренного электрона, повышает стабильность феноксильного радикала и тем самым усиливает антирадикальные свойства. В то же время наличие (у кверцетина) или отсутствие (у дигидрокверцетина) двойной связи между C_2 и C_3 , которая, как полагают, также вовлекается в механизм делокализации неспаренного электрона ароксильного радикала, не приводит к существенным различиям в соответствующих значениях k . Антирадикальная активность в отношении анион-радикала кислорода возрастает с увеличением числа гидроксильных групп в структуре флавоноидов. Так, самая высокая антирадикальная активность была выявлена у эпигаллокатехин-галлата и эпикатехин-галлата, которые в результате галлирования (присоединение по C_3 остатка галловой кислоты) имеют дополнительные гидроксильные группы. Напротив, поскольку гликозилирование блокирует химически активные группы кверцетина, у его гликозида – рутина наблюдается значительное (более чем в 2 раза) снижение антирадикальной активности. Многочисленными исследованиями подтверждается зависимость между строением флавоноидов и их антиоксидантной активностью. Обычно выделяют четыре структурных фактора, благоприятствующих высокой антиоксидантной активности флавоноидов: наличие фрагмента пирокатехина (3',4'-дигидроксизаместителей) в кольце В. Наличие орто- гидроксильных радикалов обеспечивает формирование внутримолекулярной водородной связи, что приводит к устойчивости феноксильных радикалов;

1) наличие двойной связи в кольце С в положении 2,3, повышающей устойчивость феноксильных радикалов;

2) наличие карбонильной группы в положении 4 кольца С. Влияние данного фактора повышается при наличии двойной связи C_2 - C_3 , что обеспечивает делокализацию электронной плотности в кольце В;

3) наличие ОН-группы в положении 3 кольца С.

Различные комбинации перечисленных структурных факторов приводят к повышению радикал- утилизирующей активности флавоноидов.

Антирадикальная активность возрастает с увеличением числа гидроксильных групп в кольцах А и В структуры флавонола. Дополнительные гидроксильные группы в положениях 5 и 7 усиливают их радикал-перехватывающую активность. Как и в случае с противовоспалительной актив-

ностью, пирогаллольный фрагмент кольца В активизирует антиоксидантную активность флавонолов. Флавонолы, содержащие 4, 5 или 6 ОН-групп с учетом C₃, обладают высокой антиоксидантной активностью, которая возрастает по мере увеличения количества ОН-групп в их структуре.

Так, флавонолы кемферол < кверцетин < мирицетин, расположенные в порядке возрастания активности, являются тетра-, пента- и гексагидрокси-флавонами соответственно. Однако определяющий фактор не только степень гидроксирования, но и положение гидроксильных заместителей. Так, введение гидроксильного радикала в положение 2' кольца В (морин) делает флавонол менее активным в отношении отдельных АФК, что может быть связано с особенностями его пространственного строения. Для флавонов, не имеющих ОН-групп, а также для флаванонов, отличающихся отсутствием такого носителя антиоксидантной активности, как двойная связь C₂-C₃, не характерна антиоксидантная активность [3].

Одна из актуальных задач медицины нашего времени состоит в распознавании риска заболеваний с использованием «молекулярных инструментов». Центральным фактором риска многих сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний, атеросклероза, гипертонии является оксидативный стресс. Ключевым феноменом в этих заболеваниях служит нарушение баланса про- и антиоксидантных молекул в организме. Установлено, что пероксидное окисление липидов играет важную роль в патогенезе инфаркта миокарда, атеросклероза, злокачественных новообразований, бронхолегочных и других заболеваний. Несмотря на высокую эффективность физиологической антиоксидантной системы организма, она не всегда способна защитить организм человека от отрицательных последствий оксидативного стресса.

В связи с этим актуальной является проблема создания лекарственных препаратов с антиоксидантными свойствами, с целью применения для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся усилением свободнорадикальных реакций. В этом плане большой интерес представляют биофлавоноиды, занимающие ведущее место среди экзогенных природных антиоксидантов. Фармакологические свойства биофлавоноидов в экспериментах на животных (на доклинической стадии) изучены очень широко.

Суммарные препараты и индивидуальные флавоноиды (кверцетин, кемпферол, изорамнетин) оказывают влияние на белковый обмен (стимуляция синтеза и торможение распада белков). Суммарный препарат на основе кверцетина и изорамнетина – калефлон из календулы лекарственной, по капилляроукрепляющей активности незначительно уступает кверцетину и обладает выраженным противовоспалительным действием. Наиболее интересной в фармакологическом отношении оказалась группа препаратов с высоким содержанием агликонов и гликозидов кверцетина, апигенина, лютеолина, изорамнетина, кемпферола, 5- и 6-оксифлавонов и метоксилированных 6-оксифлавонолов [1].

Северный Казахстан является богатейшим регионом произрастания лекарственной флоры, представителем которой является растение *Linusyris*

villosa (грудница мохнатая), собранная в фазу цветения на территории Северного Казахстана. Это многолетнее травянистое растение семейства сложноцветных. В народной медицине *Linomyris villosa* применяют при лечении стенокардии, бронхиальной астмы, зубной и ревматической болях. Химический состав растения изучается впервые.

Из растения *Linomyris villosa* получена субстанция «Витин», на основе которой созданы следующие лекарственные формы: мазь, настойка, бальзам, лейкопластыри, лекарственные пленки.

Из воздушно-сухого сырья был получен водно-спиртовый экстракт, который исследовали на присутствие флавоноидов. Качественный состав экстракта был изучен методом двумерной бумажной хроматографии в системах: бутанол – уксусная кислота – вода в соотношении 4:1:5 (I) и 2 %-ой уксусной кислоте (II). На хроматограмме обнаружили 20 веществ из них 8 – флавоноидной природы. Для исследования агликонов флавоноидной природы использовали метод адсорбционной хроматографии на оксиде алюминия. Полученная агликоновая фракция использовалась для разделения на полиамиде, собрали 3 фракции. Каждую фракцию исследовали методом двумерной бумажной хроматографии. На хроматограмме фракции 1 обнаружили вытянутое пятно с $R_f = 0,80$ (I), $R_f = 0,00$ (II). На хроматограмме фракции 2 обнаружили вытянутое пятно с $R_f = 0,72$ (I), $R_f = 0,00$ (II). На хроматограмме фракции 3 обнаружили одно слегка вытянутое пятно с $R_f = 0,53$ (I), $R_f = 0,00$ (II). В дальнейшем фракцию 3 накапливали, упаривали и получили темновато-желтый, маслянистый осадок, который растворяли в спирте и наносили на колонку с оксидом алюминия. Элюирование вели этанолом в присутствии следов влаги. Полученный элюат упаривали досуха. Осадок желто-зеленого цвета, многократно кристаллизовали в присутствии активированного угля из 80% этанола. Получили вещество желто-зеленого цвета, которое плавилось при температуре 318-320°C. Индивидуальность агликона исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах I и II. На хроматограмме обнаружили одно пятно с $R_f = 0,50$ (I), $R_f = 0,00$ (II).

Полученное вещество изучили также методом одномерной бумажной хроматографии с метчиком мирицетина в системе БУВ в соотношении 4: 1 : 5. Вещества оказались идентичными и имели значение $R_f = 0,50$.

Для полученного агликона сняли ИК-спектр в таблетках KBr. В ИК-спектре присутствовали полосы поглощения в области 1650 см⁻¹, соответствующие колебаниям карбонильной группы (C=O); в области 3450 см⁻¹, соответствующие колебаниям гидроксильных групп (-OH); в области 2850, 2940 см⁻¹, соответствующее колебаниям (C-H) ароматического цикла; в области 1480, 1520, 1610 см⁻¹, соответствующие колебания (C=C) ароматического кольца.

Таким образом, на основании температуры плавления, качественных реакций, литературных данных и ИК-спектроскопии полученный агликон идентифицировали, как мирицетин (3,5,7,3г,4г,5г- гексаоксифлавоны) [4].

Литература

- [1] Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. – Пушино, 2013. – 310 с.
- [2] Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстикова Г.А. Природные флавоноиды. – Новосибирск: ГЕО, 2007. – 229 с.
- [3] Кохан С.Т., Кривошеева Е.М. Экспериментальное исследование антиоксидантных свойств растительных адаптогенов // Вестник фармации. – 2010. – № 4. – С. 50-52.
- [4] Куркин В.А., Калагин О.Л., Додонов Н.С. Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих и гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды // Растит. ресурсы. – 2008. – Т. 44, вып. 1. – С. 122-124.

Резюме

В. Д. Назарова, Е. В. Бакумова

LINOSYRIS VILLOSA ӨСІМДІГІНІҢ ФЛАВОНОИДТАРЫ

Мақала *Linosyris villosa* өсімдігін фитохимиялық зерттеуге арналған. Өсімдіктен 8 флавоноидты табиғатты заттар табылған, оның ішінде агликондар және гликозидтер. Өсімдіктен «Витин» субстанциясы алынған, оның негізінде дәрілік түрлер: жақпа май, тұндырма, лейкопластырь және дәрілік қабыршақ жасалған. Күшті антиоксидант болып табылатын мирицетин агликонды бөлініп алынып, анықталды.

Тірек сөздер: флавоноидтар, мирицетин, адсорбциялық хроматография, биологиялық белсенділік, антиоксидантты белсенділік.

Summary

V. D. Nazarova, E. V. Bakumova

FLAVONOIDS OF LINOSYRIS VILLOSA PLANT

This article is about phytochemical studying of *Linosyris villosa* plant. There are 8 flavonoid substances in it, they include aglycones and glycosides. We obtain substance “Vitin” from this plant and made infusion, court plaster and medicinal pellicle on it’s base. We precipitate out and identified aglycon miricetin., which is a powerful antioxidant.

Key words: flavonoids, miricetin, absorptive chromatography, biological activity, antioxidant activity.