

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Polyakov N.A.

*All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants " (VILAR),
PhD, master*

Kalashnikova E. A.

*Russian State Agricultural University —
Timiryazev Moscow Agricultural Academy,
Doctor of biological Sciences, Professor*

Kirakosyan R. N.

*Russian State Agricultural University —
Timiryazev Moscow Agricultural Academy,
candidate of biological Sciences, associate Professor*

NEW DATA ON THE CONTENT OF CONDENSED TANNINS IN PLANTS OF THE GENUS *POTENTILLA* L.

Поляков Н.А.

*Всероссийский научно-исследовательский институт
лекарственных и ароматических растений,
г. Москва РФ*

Калашникова Е.А.

*Российский государственный аграрный университет-МСХА
имени К.А. Тимирязева,
профессор, доктор биол. наук,
г.Москва, РФ*

Киравосян Р.Н.

*Российский государственный аграрный университет-МСХА
имени К.А. Тимирязева,
доцент, канд. биол.наук,
г. Москва, РФ*

НОВЫЕ ДАННЫЕ О СОДЕРЖАНИИ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ РОДА *POTENTILLA* L.

Abstract. A review of the data available in the literature showed that tannins, (proanthocyanidins) in plant extracts, have high biological activity. They can be a part of a healthy diet. This fact led to using purified complexes of proanthocyanidins as dietary supplements. The most famous food sources of proanthocyanidins is a grape seed extract. An expanding the sources of raw materials containing this class of phenolic compounds is an urgent task. In this sense, plants of the genus *Potentilla* are one of the interesting. The pharmacological properties of *Potentilla* are due to the accumulation of phenolic metabolites.

The name of the plant originates from the Latin word «potents», meaning «powerful», «strong», due to the healing properties of plants of this genus, which have long been used in traditional medicine in many countries. In order to determine pharmacologically active compounds, numerous phytochemical studies of extracts of various species of *Potentilla* have been carried out. It is shown that terpenoids and phenolic compounds, especially condensed tannins or proanthocyanidins, were the primary focus.

The possibility of studying tannins has expanded significantly with the advent of new methods of analysis, such as high-performance liquid chromatography and high-resolution mass spectrometry. This made it possible to determine that the *Potentilla* contains tannins of various structures, including proanthocyanidins. Tetramers of proanthocyanidin type “B”, as well as a large number of di-, tri-, tetra-, penta-, and hexamers of type “A” were found in the roots of medical plants. Along with oligomers, a significant amount of polymeric proanthocyanidins of unknown structure is also present in the *Potentilla*.

Аннотация . В обзорной статье приводится анализ литературных данных, из которых следует, что дубильные вещества, представленные проантоцианидинами в растительных экстрактах, обладают высокой биологической активностью. Важность дубильных веществ, как компонента здорового питания обусловила выделение очищенных комплексов проантоцианидинов в качестве биологически активных добавок к пище. В настоящее время наиболее известным экстрактом, содержащим комплекс олигомерных проантоцианидинов, является экстракт из виноградных косточек. Расширение источников сырья данного класса фенольных соединений является актуальной задачей. В этом смысле представители рода *Potentilla* являются одним из интересных и перспективных лекарственных растений. Название *Potentilla* произошло от латинского слова «potents» — «могущественный», «сильный», благодаря целебным свойствам растений этого рода, которые в течение длительного времени использовались в традиционной медицине многих

стран. При проведении многочисленных фитохимических исследований экстрактов различных видов *Potentilla* основное внимание уделялось терпеноидам, фенольным соединениям: конденсированным дубильным веществам (проантоцианидинам). В результате удалось выяснить, что фармакологические свойства лапчатки обусловлены накоплением в органах и тканях биологически активных метаболитов, в основном фенольной природы. Возможности исследования дубильных веществ значительно расширились благодаря применению высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Это позволило определить, что в лапчатках содержится дубильные вещества разнообразного строения, представленные проантоцианидинами. В корнях лапчатки белой обнаружены тетрамеры проантоцианидинов типа «Б», а также большое число ди-, три-, тетра-, пента- и гексамеров типа «А». Наряду с олигомерами, в экстракте лапчатки присутствует значительное количество полимерных проантоцианидинов неизвестного строения.

Keywords: *Lapchatka direct, Lapchatka white, Lapchatka goose, ultra-efficient liquid chromatography, mass spectrometry, phenolic compounds*

Ключевые слова: *лапчатка прямая, лапчатка белая, лапчатка гусиная, ультра-эффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия, фенольные соединения.*

Род *Potentilla* L. (лапчатка) принадлежит к многочисленному семейству розоцветных (Rosaceae) и включает в себя около 500 видов растений, являясь крупнейшим по числу видов из семейства [1].

Экстракты надземных и подземных частей растений рода *Potentilla* L. обладают высокой биологической активностью. Препараты из лапчатки используются при лечении различных нарушений функции щитовидной железы (гипертиреоз, гипотиреоз), а также при заболеваниях печени, сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта [2]. Представители рода лапчатка входят в состав различных препаратов и БАДов. На Украине распространен фитопрепарат «Альба» (экстракт корня лапчатки белой) для лечения патологий щитовидной железы при ее нормальной и повышенной функции [3].

На основе лапчатки белой созданы комплексные препараты, включающие и другие лекарственные растения - Эндокринол, Эндонор, Тиреонорм, Тиреотон.

Фармакологические свойства растений определяются содержанием биологически активных соединений (БАС). Основной группой БАС в сырье представителей рода Лапчатка являются дубильные вещества [4,5].

По результатам научного исследования стала известна способность различных видов Лапчатки адаптироваться к неблагоприятным внешним условиям, вести борьбу с другими растениями за ограниченные ресурсы, быстро распространяться, несмотря на адвентизацию флоры – все это возможно благодаря разнообразному составу БАС, в том числе наличию дубильных веществ у этих растений [6,7]. Основным способом определения дубильных веществ в растениях является метод спектрофотометрии [8-11]. Известно, что недостатком этого метода является низкая специфичность к определяемым фенольным соединениям [12]. Такой недостаток отражается на точности количественного определения фенольных

соединений в растениях рода *Potentilla*. Так, в лапчатке белой, заготавливаемой в Самарской области, содержание дубильных веществ варьируется от 1,36 до 13,32 %. В той же местности, в лапчатке прямой содержание дубильных веществ меняется от 0,48 до 13,39 %, в лапчатке прямостоячей – 3,21 до 27,32 % [13]. На сегодняшний день наиболее современным методом определения дубильных веществ в растительном сырье является анализ методом масс-спектрометрии, а именно мониторинг множественных реакций (ММР), который был разработан в лаборатории Химии природных соединений, Университета Турку [14]. Метод ММР характеризуется высокой чувствительностью и селективностью анализа. В режиме ММР ион-предшественник целевого соединения, выделенный первым квадруполом (Q1), распадается в ячейке столкновительной диссоциации (CID) во втором квадруполе (Q2), а один или несколько полученных ионов-продуктов отфильтровываются третьим квадруполом (Q3) и попадают в детектор. Содержание фенольных соединений рассчитывают, используя калибровочные графики стандартов различных фенольных соединений.

Применение современных методов анализа, таких как жидкостная хроматография и масс-спектрометрия высокого разрешения, значительно расширило возможности изучения класса дубильных веществ, особенно конденсированных соединений или проантоцианидинов [15-20].

Дубильные вещества, обнаруживаемые в растениях рода лапчатка подразделяются на два класса соединений – гидролизуемые и конденсированные танины. Гидролизуемые танины, в свою очередь, включают галлотанины и эллагитанины. Галлотанины при кислотном гидролизе образуют D-глюкозу и галловую кислоту, тогда как эллагитанины дают нерастворимый в воде осадок эллаговой кислоты. Одним из эллагитанинов, который был обнаружен в лапчатке прямой и лапчатке гусиной является гранатанин (рис. 1) [21, 22].

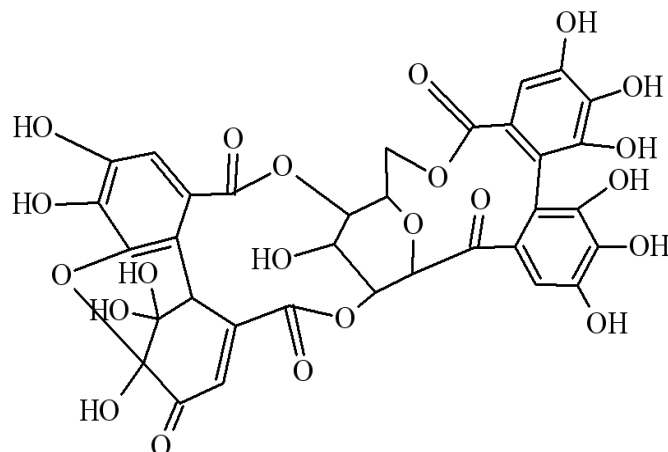


Рис.1 Структура гранатанина (эллагитанин)

Конденсированные дубильные вещества или проантоцианидины обнаруженные в растениях лапчатки представлены, как процианидинами, так и проделфинидинами (рис. 2 А и Б) [5, 19, 21, 22].

Процианидины и проделфинидины являются одними из самых интересных и важных для человека представителей растительных полифенольных соединений, и как показывают последние исследования: в лапчатках их содержится больше, чем других фенольных соединений [5, 19, 21, 22].

Проантоцианидины представляют собой олигомеры и полимеры флаван-3-ола. Этот мономер имеет типичный флаваноидный скелет, который содержит два бензольных ядра, соединенных друг с другом трехуглеродным фрагментом (рис.2). В зависимости от числа и положения гидроксильных групп в структурных

единицах флаван-3-ола, проантоцианидины разделяют на шесть подклассов: процианидины, продельфинидины, профизетидины, пропеларгонидины, проробинетидины и прогуйбортинитидины [23]. Проантоцианидины составляют основную часть потребляемых человеком биофлаваноидов. Ими богаты растения, фрукты, какао, кофе, чай всех видов [24].

Среди проантоцианидинов наиболее широко распространенными являются процианидины и продельфинидины, которые образуются в результате реакции конденсации мономеров, соответственно, катехина и/или эпикатехина, и галлокатехина и/или эпигаллокатехина (рис.2) [5, 19, 21, 22]. Эти классы фенольных соединений различаются числом гидроксильных групп в кольце «Б»: процианидины – 2 гидроксильных группы, а продельфинидины – 3 гидроксильных группы.

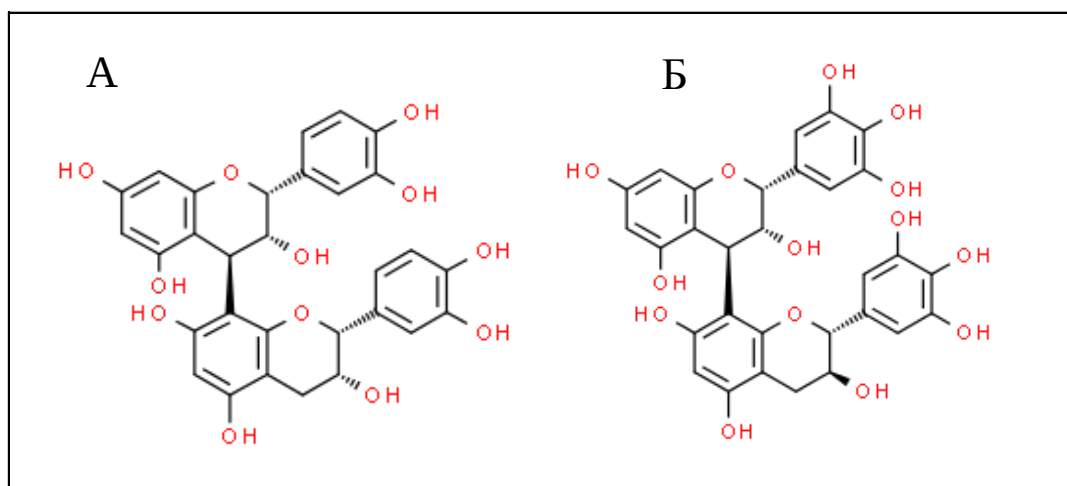


Рис. 2. Основное различие в структуре процианидина (А) и продельфинидина (Б)

Структурные единицы, связанные между собой одной межмолекулярной связью через атомы углерода, формируют Б-тип проантоцианидинов. Известен также А-тип проантоцианидинов, у которых мономерные единицы связаны двумя связями (одной С-С и одной С-О) [5]. Проантоцианидины типа «А» в меньшей степени распространены в растениях по сравнению с типом

«Б», но привлекают внимание исследователей благодаря тому, что обладают более высокой биологической активностью [16, 25].

Результаты исследований свидетельствуют, что в лапчатках проантоцианидины идентифицируются двух типов: А и Б [5, 19, 21, 22]. В природе они могут состоять из соединенных

между собой мономеров в количестве от 2 до 7 и выше [26].

Изучению биологической активности проантоцианидинов уделялась гораздо меньше внимания, чем другим фенольным соединениям. Имеющиеся немногочисленные данные антирадикальных свойств проантоцианидинов показали, что они в несколько раз превосходят известные антиоксиданты, такие как витамины С и Е [27].

Эксперименты с проантоцианидинами показали их способность влиять на экспрессию генов в культуре клеток, модулировать иммунный ответ в макрофагах, стимулируя выделение альфа-фактора некроза опухолей [28].

Так как проантоцианидины представляют собой олигомеры и полимеры, то стоит ожидать влияния большого количества факторов на их биологическую активность, таких как степень полимеризации, галлоизация, природа мономерных звеньев и положение межмолекулярных связей.

Таким образом, на основании анализа литературных данных следует заключить, что проантоцианидины обладают высокой биологической активностью. Возможности исследования дубильных веществ в растениях рода *Potentilla* значительно расширились после появления новых методов анализа, таких как высокоэффективная жидкостная хроматография и масс-спектрометрия высокого разрешения. Это позволило определить, что в лапчатках содержатся дубильные вещества разнообразной структуры, которые в основном представлены проантоцианидинами.

Список использованной литературы

1. Юзепчук С.В. Род *Potentilla* L. Лапчатка / С.В. Юзепчук // Флора СССР / Б. К. Шишкин, С. В. Юзепчук. – М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1941. – Т. 10. – С. 78-223.
2. Архипова Э.В. Влияние экстракта *Potentilla alba* L. и комплексного средства «Тиреотон» на течение экспериментального гипотиреоза / Автореф. канд. дис. – Улан-Удэ. 2012. 21с.
3. Киселева И.А. Применение растительного препарата "Альба®" в лечении больных с патологией щитовидной железы / И.А. Киселева, Е.В. Теплая, А.В. Каминский // Врачебное дело. 2012. № 8. С. 116-119
4. Schimmer O. Tannins with antimutagenic properties in the herb of *Alchemilla* species and *Potentilla anserina* / O. Schimmer, M. Lindenbaum // *Planta Med.* 1995. V. 61. № 2. P. 141-145
5. Осипов В.И. Проантоцианидины корней и корневищ *Potentilla alba* (Rosaceae) / В.И. Осипов, Н.А. Поляков, А. Н. Сидельников // Растительные ресурсы. 2017. №1. С. 114-125
6. Моторыкина Т.Н. Экологическая дифференциация и адаптивные признаки у лапчаток (*Potentilla*, Rosaceae) флоры Приморья и Приамурья / Т.Н. Моторыкина // Вестник КрасГАУ. – 2011. №2. С. 87-92

7. McIver J. Pollination Biology of *Potentilla recta* (Sulfur Cinquefoil) and Its Cooccurring Native Congener *Potentilla gracilis* in Northeastern Oregon / J. McIver, K. Erickson // *Psyche: A Journal of Entomology*. 2012. V. 2012. Article ID 281732. 18 p.

8. Мальцева, А.А. Количественное определение дубильных веществ в траве горца почечуйного / А.А. Мальцева, А.С. Чистякова, А.А., Сорокина // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. 2013. №2. С. 203-205.

9. Разарёнова, К.Н. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ некоторых видах рода *Geranium* L. Флоры Северо-Запада / К.Н. Разарёнова, Е.В. Жохова // Химия растительного сырья. – 2011. – №4. – С. 187-192.

10. Ненелева, Е.В. Разработка и валидация методики количественного определения полифенольных соединений в коричнике китайском / Е.В. Ненелева, О.В. Евдокимова // Евразийский Союз Ученых (ЕСУ), фармацевтические науки. – 2015. – № 8. – С. 58-60.

11. Сайбель, О.Л. Разработка методики количественного определения суммы полифенольных соединений в подземных органах сабельника болотного / О.Л. Сайбель, Т.Д. Даргаева, Л.Н. Зайко // Вестник Бурятского государственного университета. – 2008. – №12. – С. 17-21.

12. Куркин В.А. Количественное определение арбутина в листьях толокнянки обыкновенной / В.А. Куркин, Т.К. Рязанова, И.А. Платонов, Л.В. Павлова // Химия растительного сырья. 2015. №1. С. 95-100

13. Хисямова, Д.М. Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых представителей рода лапчатка (*Potentilla* L.): дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Хисямова, Динара Мидхатовна. – Самара, 2017. – 190 с.

14. Engstrom M. T. Rapid Fingerprint Analysis of Plant Extracts for Ellagitannins, Gallic Acid, and Quinic Acid Derivatives and Quercetin, Kaempferol- and Myricetin-Based Flavonol Glycosides by UPLC-QqQ-MS/MS / M. T. Engstrom, M. Päljärvi, J. P. Salminen // *Agric. Food Chem.* 2015. V. 63. P. 4068-4079

15. Hiller K. *Potentilla* / K. Hiller // *Hagers Hand buch der Pharmazeutischen Praxis* / Ed. by P.-Z. Drogen; Berlin, Heidelberg, New York. 1994. P. 254-269.

16. Maldonado P. D. Antioxidant activity of A-type proanthocyanidins from *Geranium niveum* (Geraniaceae) / P. D. Maldonado, I. Rivero-Cruz, R. Mata, J. Pedraza-Chaverri // *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53. N 6. P. 1996-2001.

17. Ljubic B.T. Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Potentilla reptans* L. / B.T. Ljubic, M.J. Kostic, S.M. Jankovic // *Acta Poloniae Pharm. Drug Res.* 2015. Vol. 72. N. 1. P. 137-145.

18. Oszmianski J. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots / J. Oszmianski, A. Wojdylo, E. Lamer-Zarawska, K. Swiader // *Food Chem.* 2007. Vol. 100. N 2. P. 579-583.

19. Tomczyka M. Potentilla - A review of its phytochemical and pharmacological profile/ M. Tomczyka, K. P. Latte // J. Ethnopharm. 2009. Vol. 122. P. 184–204.
20. Шериева Ф. К. Фармакогностическое изучение лапчатки белой – Potentilla alba L., интродуцированной на Северном Кавказе: дис...канд.фарм.наук. Волгоград, 2015. 121 с.
21. Поляков Н. А. Состав и содержание проантоцианидинов в корнях и корневищах лапчатки белой (Potentilla Alba)/ Н. А. Поляков, Ф.М. Хазиева, А.И. Мешков, И.Н. Коротких, В. И. Осипов // Фенольные соединения: свойства, активность, инновации: сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума “Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты”, Москва, 14-19 мая 2018 г. / отв. ред. Н.В. Загоскина –М.: ИФР РАН,-2018. С. - 347.
22. Поляков Н.А., Сравнительное изучение состава и содержания метаболитов у растений рода Potentilla/ Н.А. Поляков, Ф.М. Хазиева, И.Н. Коротких, В.И. Осипов// Пятая научно-практическая конференция с международным участием: «Молодые учёные и фармация XXI века»: Сборник трудов пятой научно-практической конференции аспирантов и молодых учёных «молодые учёные и фармация XXI века» М., ВИЛАР, 2017г. с.114
23. Ossipova S., Ossipov V., Haukioja E., Loponen J., Pihlaja K. Proanthocyanidins from mountain birch leaves: quantitation and properties/ S. Ossipova, V. Ossipov, E. Haukioja, J. Loponen, K. Pihlaja // Phytochem. Analysis. 2001. Vol. 12. N 2. P. 128-133
24. Santos-Buelga C. Proanthocyanidins and tannin – like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health/ C. Santos-Buelga, A. Scalbert // J. Sci. Food Aric. 2000. Vol. 80, N 7. P. 1094-1117
25. Gu L.W. Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods/ L.W. Gu, V.A. Kelm, J.F. Hammerstone, Z. Zhang, G. Beecher, J. Holden, D. Haytowitz, R.L. Prior // J. Mass Spectrometry. 2003. Vol. 38. N 12. P. 1272-1280
26. Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action/ E. Haslam // J. Nat. Prod. 1996. Vol. 59, N 2. P. 205-215
27. Bagchi D. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro / D. Bagchi, A. Garg, R. Krohn // Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. 1997. Vol. 95, N 2. P. 179-189
28. Park Y.C. Activity of monomeric, dimeric, and trimeric flavanoids on NO production, TNF – alpha secretion, and NF- kappa B-dependent gene expression in RAW 264.7 macrophages/ Y.C. Park, G. Rimbach, C. Saliou // FEBS Lett. 2000. Vol. 465, N 2/3. P. 93-97.

УДК 615.272.7+615.015.44+599.323.4

Иванов В.С.

кандидат медицинских наук, главный врач

ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН»

Шнайдер С.А.

доктор медицинских наук, профессор

ГУ «ИС ЧЛХ НАМН»

Ткаченко Е.К.

кандидат биологических наук,

заведующая сектором экспериментальной патологии

ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН»

ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ГЕНОТОКСИКАНТОВ ПРЯМОГО И НЕПРЯМОГО ДЕЙСТВИЯ

Ivanov V.S.

candidate of medical sciences, doctor of the

SE “Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”

Shnaider S.A.

doctor of medical sciences, professor, director of the

SE “Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”

Tkachenko E.K.

candidate of biological sciences, head of the experimental pathology sector of the SE “Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”