

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫРЬЯ ЛИСТЬЕВ КУБЫШКИ ЖЕЛТОЙ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ

Д.В. Дрик, студентка Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), drikdiana202@mail.ru

Н.В. Нестерова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), nesterova_n_v_1@staff.sechenov.ru

Анализ научной литературы и соответствующей нормативной документации показал тенденцию к исследованию биологически активных компонентов листьев кубышки желтой и изучению влияния извлекаемой алкалоидной фракции на молекулярные и клеточные структуры, участвующие в развитии заболеваний, что позволяет рассматривать указанный вид сырья в качестве перспективного источника получения новых лекарственных средств.

Ключевые слова: кубышка желтая, очищенный экстракт листьев кубышки желтой, NFkB, димерные сесквитерпеновые тиаалкалоиды, 6,6' – дигидрокситиобинуфаридин

Кубышка желтая – одно из самых распространенных евро-азиатских водных растений, отличающееся ярким околоцветником, что послужило поводом для создания многочисленных мифов и легенд. Однако помимо внешнего очарования кубышка желтая известна и своими лечебными противовоспалительными свойствами, которые используются по сей день. Подробное ботаническое описание кубышки желтой, сопровождаемое иллюстрациями, содержалось в Atlas des plantes de France.

Корневище данного растения входит в травяной сбор японской народной медицины

Jidabokuippo, применяемой при ушибах и отеках. Даже известные нестероидные противовоспалительные препараты не показали большую эффективность при лечении пациентов с переломами ребер по сравнению с исполь-

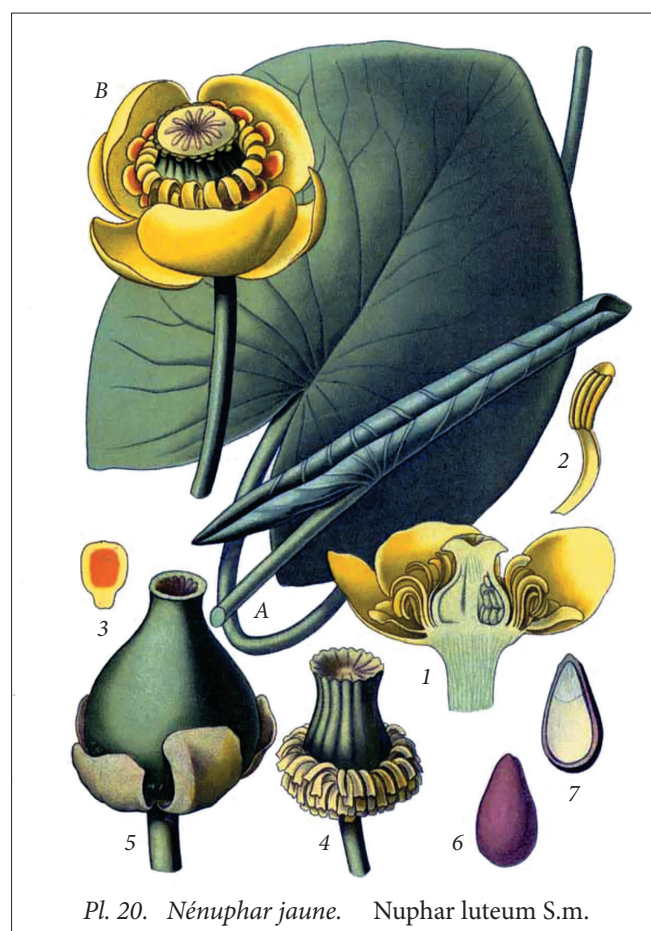


РИС. 1. Ботаническая иллюстрация *Nuphar lutea* (L.)

зованием *Jidabokuippo*. Японский сбор позволил не только ускорить выздоровление, его использование оказалось и гораздо более экономически выгодным [1]. Детальный опрос народных целителей и травников в Ливане показал широту использования экстракта листьев кубышки желтой в качестве противоревматоидного средства [2]. Как бореальная растительность кубышка была также известна среди коренных народов Канады и использовалась при борьбе с мигренью, болью в спине и артритом [3].

Огромную роль в изучении фракции алкалоидов корневищ кубышки сыграли российские ученые Н.Н. Ильинская и А.Д. Кузовков, которые в 1963 году выявили сумму алкалоидов, получивших название нуфаридины, большую часть которых составляют тиобинуфаридины, основным из них является нуфлеин. Химическая структура нуфлеина представлена на рис. 2.

В настоящее время в качестве сырья для заготовки используют именно корневища кубыш-

ки желтой, в которых содержатся ценные алкалоиды группы хинолизидина, производные нуфаридина и прочие биологически активные вещества. Другие части растения исследованы в гораздо меньшей степени, что препятствует широкому использованию растения в современной фармацевтической практике.

Целью данного исследования является комплексное изучение научной литературы, отражающей острую необходимость в расширении сырьевой базы лекарственного растительного сырья путем введения перспективного растительного объекта листа кубышки желтой, а также потребность в стандартизации данного сырья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для осуществления поставленной задачи были использованы такие методы исследования, как мониторинг отечественных и зарубежных научных статей в периодических

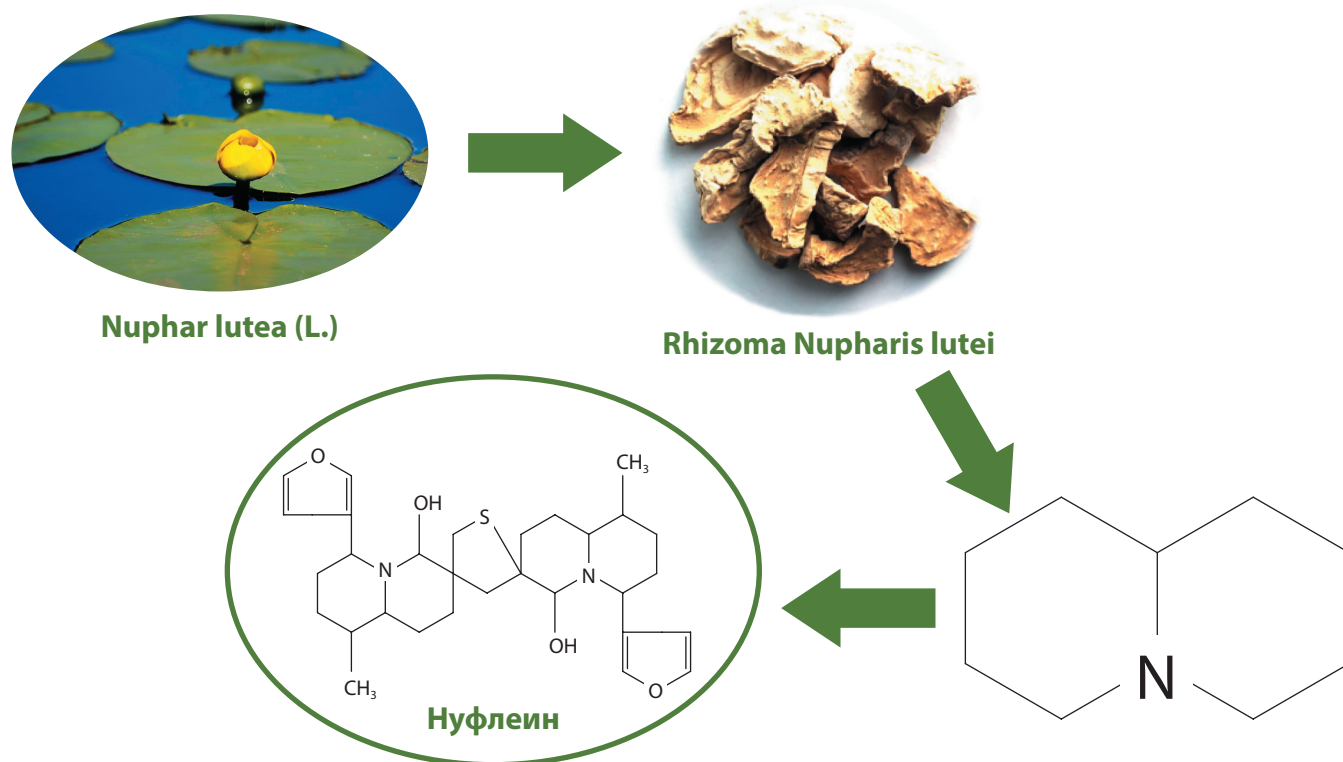


РИС. 2. Химическая структура нуфлеина

изданиях, анализ соответствующей нормативной документации в рамках сформулированной выше цели.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученный экстракт листьев кубышки желтой, известный в исследовательском сообществе под аббревиатурой NUP, обладает противовоспалительными свойствами благодаря сесквитерпеновым тиаалкалоидам б-гидрокситиобинуфаридину и б-гидрокситионуфлутину В. Данные вещества были выявлены с помощью хроматографии и ЯМР-анализа. Именно эти компоненты вызвали торможение активности NF-κB (фактора транскрипции, участвующего во многих патологических и биологических процессах), чем обусловлено возможность применения экстракта против воспаления [4].

Аналогичный механизм действия NUP был продемонстрирован на моделях острого септического шока. Предварительная обработка NUP мышей, которым вводили ЛПС, значительно снизила их смертность за счет ингибирования пути NF-κB и моделирования выработки цитокинов и фосфорилирования ERK [5].

Проблема противовирусных препаратов стоит особенно остро, поэтому ученые всего мира нацелены на поиск новых молекулярных и клеточных мишеней. Противовирусные свойства были найдены у кубышки желтой, экстракт листьев которой содержит сесквитерпеновые тиаалкалоиды [4]. Было выявлено, что NUP в нетоксических дозах способен защитить клетки от цитотоксической активности вируса кори (MV). Клетки, которые были обработаны предварительно NUP, показали 1000-кратное уменьшение вирусных частиц, а лечение с помощью NUP уже инфицированных вирусом кори клеток дает снижение количества вирусного белка [6]. Наряду с этим был проведен похожий эксперимент

с респираторно-синцитиальным вирусом человека (RSV) для понимания широты действия экстракта листьев кубышки желтой. По предварительным результатам, противовирусная активность NUP в данном эксперименте была схожа с показателями предыдущего исследования с вирусом кори [6].

Однако этим фармакологические эффекты NUP не ограничиваются. Экстракт с алкалоидной фракцией эффективен при лейшманиозе, причем действует как на амастиготы, так и на промастиготы данного простейшего. NUP в концентрации 1,25 мкг/мл за три дня лечения полностью устранил внутриклеточных паразитов [7]. Данный эффект опосредован известным влиянием NUP на экспрессию NF-κB. Механизм токсичности экстракта против *Leishmania major* был подробнее изучен у перитонеальных макрофагов мышей [8]. Данные исследования дают основания для стандартизации сырья листьев кубышки желтой с целью использования ее экстракта в качестве противолейшманиозного средства.

Кроме того, активность кубышки желтой применима в борьбе и с другим простейшим паразитом *Trypanosoma brucei*, распространенным в отдельных регионах Африки к югу от Сахары. Известные препараты не только обладают высокой токсичностью, но и усугубляют ситуацию лекарственной устойчивостью. Экстракт кубышки желтой, в отличие от прочих исследуемых растений Северной Америки, показал наибольшую антитрипосомальную активность с IC₅₀ 0,42 мкг/мл [9].

NUP также обладает бактерицидным действием. Выделенный из экстракта нуфаридин (б,б' – дигидрокситиобинуфаридин) повлиял на функции нейтрофилов, которые были выделены из клеточной линии человека HL60, в отношении *Aggregatibacter actinomycetem-comitans*, ответственных за воспаление десен. Биологически активное вещество повышало клиренс Aa-JP2 и усиливало фагоцитоз нейтрофилов, что делает возможным применение

компонента при лечении пародонтита после соответствующих исследований [10].

Кубышка желтая уже долгое время также является объектом исследования как средство от рака. Действие нуфлеина было изучено в рамках моделей опухолевых клеток (фибробласты кожи крыс). На клетках рака шейки матки человека HeLa, которые были чувствительны к цитостатикам, доказан высокий цитотоксический эффект нуфлеина [11]. Нуфлеин превзошел в 200 раз активность известного цисплатина, но при этом был в 100 раз менее цитотоксичен в отношении нормальных клеток по сравнению в опухолевыми [12]. Это делает возможным повышение избирательности химиотерапии, что позволит не наносить дополнительный вред здоровым клеткам.

Поскольку NF-κB является ключевым фактором транскрипции, участвующим в воспалительном пути, NF-κB конститутивно активен при большинстве видов рака, и многие из сигнальных путей, вовлеченных в рак, объединены

в сеть с активацией NF-κB [13]. Данный факт использовали и при изучении влияния NUP на меланомные клетки [4,14]. Лечение NUP ингибировало TNFα-индуцированную деградацию IκBα и ядерную транслокацию NF-κB в клетках меланомы, активировало сигнальный путь ERK (путем фосфорилирования). Более того, экстракт ингибирует миграцию клеток, что является важным фактором в определении метастатического потенциала опухолевых клеток. Лечение мышей NUP в комбинации с цисплатином уменьшало метастазирование меланомы B16 в легкие [14]. Таким образом, мощная противоопухолевая активность соединений семейства нуфаридинов подтвердилась [15].

NUP также показал цитотоксическую активность в отношении клеточных линий человека KM-H2 (клетки Ходжкинской лимфомы, LD50 0.25 µg/ml) [4].

Одной из самых распространенных причин смерти мужчин является рак предстательной железы. Данная форма обычно добро-



РИС. 3. Фармакологическая активность алкалоидной фракции, содержащейся в листьях кубышки

качественна и развивается медленно. Однако активация NF-κB и некоторые другие сигналы, связанные с воспалением, способствуют злокачественности рака [16]. Зная об ингибирующем влиянии NUP на NF-κB, можно предположить расширение возможностей использования экстракта листьев кубышки желтой, но это требует дальнейших исследований.

Прочие молекулярные механизмы действия NUP мало исследованы, но первые результаты экспериментов уже появляются. Например, было выявлено, что активный компонент 6,6' – дигидрокситиобинуфаридин усиливает расщепление ДНК, опосредованное топоизомеразой человека IIα и IIβ, в 8 и 3 раза соответственно [17]. Алкалоиды кубышки желтой также способны индуцировать апоптоз в клетках млекопитающих менее чем за 1 ч, что позволяет считать их одними из самых быстрых известных индукторов. 6-гидрокситиобинуфаридин индуцировал быстрый апоптоз в клеточных линиях лимфомы, лейкемии и карциномы, но как ВАХ/ВАК-независимый путь. Он также обошел резистентность клеток хронического лимфоцитарного лейкоза [18]. Стоит акцентировать внимание на том, что очищенный 6,6' – дигидрокситиобинуфаридин показал гораздо более высокую проапоптотическую активность по сравнению с NUP, что было продемонстрировано на клетках острого миелоидного лейкоза AML [19]. Более того, все тот же очищенный DTBN является эффективным ингибитором киназной активности членов семейства протеинкиназы C [20].

Разнообразие фармакологической активности и возможности использования листьев кубышки представлены на рис. 3.

ВЫВОДЫ

1. Анализ научной литературы показывает наличие в листьях кубышки желтой ценных биологически активных веществ алкалоидной

фракции, обуславливающих их потенциал использования в медицинской практике.

2. Несмотря на наличие в литературе данных о присутствии в исследуемом сырье необходимых для лечения заболеваний различной этиологии соединений, отсутствует нормативная документация на листья кубышки желтой в качестве лекарственного растительного сырья, что позволяет направить дальнейшие исследования на стандартизацию сырья и разработку необходимой нормативной документации на листья кубышки желтой.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Nakae H., Yokoi A., Kodama H., Horikawa A. *Comparison of the Effects on Rib Fracture between the Traditional Japanese Medicine Jidabokuippo and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Randomized Controlled Trial // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, – 7 p.*
2. El Beyrouthy M., Arnold N., Delelis-Dusollier A., Dupont F. *Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon // J. Ethnopharmacol, 2008, vol. 120, i. 3, pp. 315–334.*
3. Uprety Y., Lacasse, A., Asselin, H. *Traditional Uses of Medicinal Plants from the Canadian Boreal Forest for the Management of Chronic Pain Syndromes // Pain Pract., 2016, vol. 16, i. 4, pp. 459–466.*
4. Ozer J., Eisner N., Ostrozhenkova E., Bacher A., Eisenreich W., Benharroch D. et al. *Nuphar lutea thioalkaloids inhibit the nuclear factor kappaB pathway, potentiate apoptosis and are synergistic with cisplatin and etoposide // Cancer Biology & Therapy, 2009, vol. 8, i. 19, pp. 1860–1868.*
5. Ozer J., Levi T., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. *Anti-inflammatory effect of a Nuphar lutea partially purified leaf extract in murine models*

- of septic shock // *J. Ethnopharmacol*, 2015, vol. 161, pp. 86–91.
6. Winer H., Ozer J., Shemer Y., Reichenstein I., Eilam-Frenkel B., Benharroch D., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. Nuphar lutea Extracts Exhibit Anti-Viral Activity against the Measles Virus // *Molecules*, 2020, vol. 25, i. 7, p. 1657.
 7. El-On J., Ozer L., Gopas J., Sneir R., Golan-Goldhirsh A. Nuphar lutea: In vitro anti-leishmanial activity against *Leishmania major* promastigotes and amastigotes // *Phytomedicine*, 2009, vol. 16, i. 8, pp. 788–792.
 8. Ozer L., El-On J., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. *Leishmania major*: Anti-leishmanial activity of Nuphar lutea extract mediated by the activation of transcription factor NF- κ B // *Experimental Parasitology*, 2010, vol. 126, i. 4, pp. 510–516.
 9. Jain S., Jacob M., Walker L., Tekwan B. Screening North American plant extracts in vitro against *Trypanosoma brucei* for discovery of new anti-trypanosomal drug leads // *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2016, vol. 16, p. 131.
 10. Levy D.H., Chapple I.L. C., Shapira L., Golan-Goldhirsh A., Gopas J., Polak D. Nupharidine enhances *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* clearance by priming neutrophils and augmenting their effector functions // *J. of Clinical Periodontology*, 2019, vol. 46, i. 1, pp. 62–71.
 11. Влияние алкалоида нуфлеина из кубышки желтой на жизнеспособность клеток рака шейки матки человека и фибробластов кожи крыс / Т.А. Федотчева, О.П. Шейченко, В.В. Ануфриева, В.И. Шейченко / Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ВИЛАР. – 2016. – С. 628–630.
 12. Федотчева Т.А., Шейченко О.П., Широких К.Е. Цитостатическая активность алкалоида кубышки желтой нуфлеина // Российский биотерапевтический журнал. 2016. – Т. 15(1). – С. 110.
 13. Chaturvedi M.M., Sung B., Yadav V.R., Kannappan R., Aggarwal B.B. NF- κ B addiction and its role in cancer: ‘one size does not fit all’ // *Oncogene*, 2011, vol. 30, i. 14, pp. 1615–1630.
 14. Ozer J., Fishman D., Eilam B., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. Anti-metastatic effect of semi-purified Nuphar lutea leaf extracts // *Cancer*, 2017, vol. 8, i. 8, pp. 1433–1440.
 15. Staal J., Beyaert R. Inflammation and NF- κ B Signaling in Prostate Cancer: Mechanisms and Clinical Implications // *Cells*, 2018, vol. 7, i. 9, p. 122.
 16. Modzelewska A., Sur S., Kumar S.K., Khan S.R. Sesquiterpenes: natural products that decrease cancer growth // *Current Medical Chemistry – Anti-cancer Agents*, 2005, vol. 5, i. 5, pp. 477–499.
 17. Dalvie E.D., Gopas J., Golan-Goldhirsh A., Osheroff N. 6,6'-Dihydroxythiobinupharidine as a poison of human type II topoisomerases // *Bioorganic and Medical Chemistry Letters*, 2019, vol. 29, i. 15, pp. 1881–1885.
 18. Mallick D.J., Korotkov A., Li H., Wu J., Eastman A. Nuphar alkaloids induce very rapid apoptosis through a novel caspase-dependent but BAX/BAK-independent pathway // *Cell Biology and Toxicology*, 2019, vol. 35, i. 5, pp. 435–443.
 19. Muduli S., Golan-Goldhirsh A., Gopas J., Danilenko M. Cytotoxicity of Thioalkaloid-Enriched Nuphar lutea Extract and Purified 6,6'-Dihydroxythiobinupharidine in Acute Myeloid Leukemia Cells: The Role of Oxidative Stress and Intracellular Calcium // *Pharmaceuticals*, 2022, vol. 15, i. 4, p. 410.
 20. Waidha K., Anto N.P., Jayaram D.R., Golan-Goldhirsh A., Rajendran S., Livneh E., Gopas J. 6,6'-Dihydroxythiobinupharidine (DTBN) Purified from Nuphar lutea Leaves Is an Inhibitor of Protein Kinase C Catalytic Activity // *Molecules*, 2021, vol. 26, i. 9, pp. 2785.

21. Waidha K., Zurgil U., Ben-Zeev E., Gopas J., Rajendran S., Golan-Goldhirsh A. Inhibition of Cysteine Proteases by 6,6' – Dihydroxythiobinupharidine (DTBN) from *Nuphar lutea* // *Molecules*, 2021, vol. 26, i. 16, pp. 4743.
22. Matsuda H., Nakamura S., Nakashima S., Fukaya M., Yoshikawa M. Biofunctional Effects of Thiohemiaminal-Type Dimeric Sesquiterpene Alkaloids from *Nuphar* Plants // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2019, vol. 67, i. 7, pp. 666–674.
23. Fukaya M., Nakamura S., Hegazy M.E.F., Yoshikazu Sugimoto Y., Hayashi N., Nakashima S., Yoshikawa M., Efferth T., Matsud H. Cytotoxicity of sesquiterpene alkaloids from *Nuphar* plants toward sensitive and drug-resistant cell lines // *Food and Functions*, 2018, vol. 9, i. 12, pp. 6279–6286.
-
-

PROSPECTS FOR THE USE OF NUPHAR LUTEA LEAVES IN MEDICINE AND PHARMACY

D.V. Drik, N.V. Nesterova

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

*The analysis of scientific literature and relevant normative documentation has shown a tendency to explore biologically active substances of *Nuphar lutea* leaves and to study the effect of the extracted alkaloid fraction on molecular and cellular structures involved in the development of diseases; that allows us to consider this type of raw material as a promising source of new medications.*

Keywords: *Nuphar lutea*, semi-purified *Nuphar lutea* leaf extract, NFκB, dimeric sesquiterpene thioalkaloids, 6,6' – hydroxythiobinupharidine