

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.125.74>ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА КОРНЕВИЩ *PETASITES HYBRIDUS*

Научная статья

Цибизова А.А.¹, Каштанова О.А.², Сергалиева М.У.^{3,*}¹ ORCID : 0000-0002-9994-4751;² ORCID : 0000-0002-4738-7762;³ ORCID : 0000-0002-9630-2913;^{1,2,3} Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (charlina_ast[at]mail.ru)

Аннотация

Растения рода *Petasita L.* широко используются в народной медицине для лечения мигрени, гипертонии, респираторных, желудочно-кишечных и других заболеваний. В многочисленных исследованиях установлено, что извлечения различных видов белокопытника оказывают седативное, нейропротекторное, противовоспалительное, антиоксидантное, гипотензивное, кардиопротекторное, противопухоловое, противомикробное действие и др. Разнонаправленную фармакологическую активность обеспечивает уникальный химический состав белокопытника. Цель: оценка биологической активности экстракта корневищ *Petasites hybridus*. В качестве объекта исследования был рассмотрен экстракт корневищ *Petasites hybridus* приготовленный в отношении 1:1. Биологическую активность *Petasites hybridus* изучали на разведениях экстракта в следующих концентрациях: 1%, 5%, 10%, 20%, 50% и 100%. Токсические свойства экстрактов *Petasites hybridus* изучали на культуре *Paramecium caudatum* по следующей методике: на предметное стекло наносили каплю (50 мкл) культуру парамециев, добавляли эквивалентный объем исследуемого экстракта в различной концентрации и через 10 мин учитывали изменение количества, форму, размер и характер движения парамеций. Мембраностабилизирующую и антиоксидантную активность изучали с применением в качестве токсикантов 14% раствор этанола и 3% раствор перекиси водорода. Установлено, что экстракт корневищ *Petasites hybridus* не оказывает токсического воздействия на клетки парамециев в концентрациях от 1% до 10% и оказывает выраженное антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие, тогда как концентрации от 20% до 100% вызывают токсические эффекты, проявляющиеся в снижении скорости деления клеток, снижении их количества и подвижности. Таким образом, проведенные исследования токсических и биологических эффектов экстракта корневищ *Petasites hybridus* свидетельствуют о том, что их выраженность зависит от концентрации экстрактов: низко разведенные экстракты оказывают антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект, тогда как высокие концентрации оказывают токсическое воздействие на *Paramecium caudatum*. Полученные результаты могут быть использованы как пилотные при проведении изучения профиля безопасности данного растения в дополнительных экспериментальных исследованиях на животных моделях с целью разработки на его основе лекарственных средств.

Ключевые слова: Белокопытник гибридный, *Paramecium caudatum*, антиоксидантное действие, мембраностабилизирующее действие.

THE EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF *PETASITES HYBRIDUS* ROOTSTALKS EXTRACT

Research article

Tibizova A.A.¹, Kashtanova O.A.², Sergaliev M.U.^{3,*}¹ ORCID : 0000-0002-9994-4751;² ORCID : 0000-0002-4738-7762;³ ORCID : 0000-0002-9630-2913;^{1,2,3} Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation

* Corresponding author (charlina_ast[at]mail.ru)

Abstract

Plants of the genus *Petasita L.* are widely used in traditional medicine to treat migraine, hypertension, respiratory, gastrointestinal and other diseases. In numerous studies it has been found that extracts of different species of *Petasites hybrida* have sedative, neuroprotective, anti-inflammatory, antioxidant, hypotensive, cardioprotective, antitumor, antimicrobial effects, etc. The versatile pharmacological activity is provided by the unique chemical composition of *Petasites hybrida*. Aim: evaluation of the biological activity of *Petasites hybridus* rootstalk extract. An extract of *Petasites hybridus* rootstalks prepared in 1:1 ratio was considered as an object of study. The biological activity of *Petasites hybridus* was studied on dilutions of the extract in the following concentrations: 1%, 5%, 10%, 20%, 50% and 100%. Toxic properties of *Petasites hybridus* extracts were studied on *Paramecium caudatum* culture by the following method: a drop (50 µl) of *Paramecium* culture was put on a slide, an equivalent volume of the studied extract in different concentrations was added and after 10 min the number, shape, size and character of *Paramecium* movement were registered. Membrane stabilizing and antioxidant activity was studied with 14% ethanol solution and 3% hydrogen peroxide solution as toxicants. It was found that the *Petasites hybridus* rootstalks extract has no toxic effect on *paramecium* cells in concentrations from 1% to 10% and has a significant antioxidant and membrane-stabilizing effect, whereas concentrations from 20% to 100% cause toxic effects manifested in a reduction of cell division rate, decrease in their number and mobility. Thus, the studies on the toxic and biological effects of *Petasites hybridus* rootstalks extract indicate that their severity depends on the extract concentration: low diluted extracts have antioxidant and membrane

stabilizing effects, while high concentrations have a toxic effect on *Paramecium caudatum*. The results obtained can be used as a pilot to study the safety profile of this plant in additional experimental studies on animal models in order to develop drugs based on it.

Keywords: *Petasites hybrida*, *Paramecium caudatum*, antioxidant effect, membrane stabilizing effect.

Введение

Род *Petasita L.* состоит из травянистых многолетников с густыми, ползучими корневищами, большинство из которых широко используется в народной медицине для лечения мигрени, гипертонии, респираторных, желудочно-кишечных и других заболеваний [1], [2]. В многочисленных исследованиях установлено, что извлечения различных видов белокопытника оказывают седативное, нейропротекторное, противовоспалительное, антиоксидантное, гипотензивное, кардиопротекторное, противовопухоловое, противомикробное действие и др. [3], [5], [7], [9]. Разнонаправленную фармакологическую активность обеспечивает уникальный химический состав белокопытника. Доказано, наличие секвистерпенов, пирролизидиновых алкалоидов (сенеционин, сенециофиллин, интергерримин и др.), органических кислот (фукииновая кислота, кофейная кислота и другие производные гидроксикоричной кислоты), флавоноидов и их гликозидов (кемпферол, кверцетин, рутин), лигнанов (петазитины А и В), летучих соединений (β -кариофиллен, валентен, петазитен, эупарин, α -эудесмол и др.) [10], [11].

Принимая во внимание вышеописанные факты, изучение биологической активности Белокопытника гибридного (*Petasites hybridus L.*), выращенного в Астраханской области, как потенциального источника сырья для производства фитосредств, является перспективным направлением.

Цель исследования: оценка биологической активности экстракта корневищ *Petasites hybridus*.

Методы и принципы исследования

В качестве объекта исследования был рассмотрен экстракт корневищ *P. hybridus* приготовленный в отношении 1:1. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70 % концентрации. Получали экстракт с помощью настаивания на водяной бане при температуре 60 °С в течение 2 часов, с последующим отгоном экстрагента на ротационном испарителе. Сырье заготовлено в апреле 2021 г. на территории Астраханской области в Харабалинском районе и после проведения первичной обработки было высушено воздушным способом в тeneвых условиях и измельчено до размера частиц 3 мм.

Биологическую активность *P. hybridus* изучали на разведениях экстракта в следующих концентрациях: 1%, 5%, 10%, 20%, 50% и 100%.

Токсические свойства экстрактов *P. hybridus* изучали на культуре инфузории-туфельки (*Paramecium caudatum*) по следующей методике: на предметное стекло наносили каплю (50 мкл) культуру парамециев, добавляли эквивалентный объем исследуемого экстракта в различной концентрации и через 10 мин учитывали результаты. В контрольную каплю с культурой клеток вносили эквивалентный объем воды дистиллированной. Оценивали изменение количества, форму, размер и характер движения парамеций.

Мембраностабилизирующую и антиоксидантную активность изучали с применением в качестве токсикантов, воздействующих преимущественно на белковый и липидный компоненты клеточной стенки, 14% раствор этанола и 3% раствор перекиси водорода. В культуру клеток вносили экстракт в различных разведениях, через 72 часа токсиканты в объеме 50 мкл и оценивали время полной остановки парамеций.

Все исследования проводили в 5 кратной повторности. Экспериментальные данные обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между группами признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Основные результаты

Результаты исследования токсической активности экстракта корневищ *P. hybridus* показаны в таблице 1.

Таблица 1 - Оценка токсичности экстракта корневищ *Petasites hybridus*

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.125.74.1>

Концентрация экстракта, %	Первоначально е количество клеток	Количество клеток через 72 часа	Размер клеток, мкм	Форма клеток	Характер движения
Контроль	5-7	70-80	90-100	Эллипсоидные	Активные
1	5-7	120-130	90-100	Эллипсоидные	Активные
5	5-7	170-180	90-100	Эллипсоидные	Активные
10	5-7	130-140	90-100	Эллипсоидные	Активные
20	5-7	50-60	70-80	Сферическая	Активные
50	5-7	30-40	70-80	Сферическая	Мало активные
100	5-7	10-20	70-80	Сферическая	Мало активные

Результаты оценки биологической активности показали, что разведения экстракта 20% - 100% оказывают выраженное токсическое воздействие, сопровождающееся снижением количества клеток парамециев, уменьшением размеров, изменением их формы и снижением активности. Высоко разведенный экстракт в концентрациях 1% и 10% приводит к увеличению количества парамециев в 1,8-1,9 раза в сравнении с контролем, при этом размер, форма и

характер движения остаются неизменными. Экстракт в концентрации 1:5 способствует увеличению количества клеток парамециев в сравнении с контролем в 2,4 и 2,3 раз.

Принимая во внимание вышеописанное, можно сделать вывод, что биологическое действие экстракта корневищ *Petasites hybridus* зависит от его концентрации. Наименьшая летальная концентрация изучаемого экстракта соответствует концентрации 20%, при которой отмечено снижение количества клеток парамециев через 72 часа.

Результаты исследования биологической активности экстракта корневищ *Petasites hybridus* показаны в таблице 2.

Таблица 2 - Оценка биологической активности экстракта корневищ *Petasites hybridus*

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.125.74.2>

Время остановки, мин	Контроль	Концентрация экстракта					
		1 %	5 %	10 %	20 %	50 %	100 %
14% раствор этанола	0,29±0,02	0,43±0,02 **	0,76±0,07* **	0,73±0,07	0,26±0,02 *	0,23±0,03*	0,11±0,01*
3% раствор перекиси водорода	0,20±0,03	0,24±0,02 *	0,57±0,03 ***	0,48±0,04	0,18±0,01	0,18±0,01	0,09±0,01

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ – относительно контроля

В сравнении с контрольными показателями 1% концентрация экстракта способствовала увеличению времени остановки парамециев в растворах 14% этанола и 3% перекиси водорода на 48% и 20% соответственно; 5% экстракт увеличивал показатель на 162% и 185%; 10% концентрация – на 152% и 140% соответственно. Концентрации экстракта от 20% до 100% приводили к значительному снижению скорости парамециев под воздействием токсикантов: на 10% и 15%, 21% и 10%, на 62% и 55% в сравнении с контрольными значениями.

Удлинение времени остановки парамециев в экстракте в разведениях от 1 до 10% на фоне воздействия токсикантов свидетельствует о наличии мембраностабилизирующей и антиоксидантной активности, тогда как снижение времени до полной остановки, напротив, подтверждает токсическое действие экстракта корневищ *Petasites hybridus* в концентрациях 20, 50 и 100%.

Обсуждение

Применение *Paramecium* в качестве биологической модели с целью скринингового исследования биологической и токсической активности различных соединений предпочтительно является перспективным направлением, так как применение простейших дает возможность быстрой оценки вероятных изменений в результате воздействия различных токсикантов. Так как патогенетические аспекты развития токсичности тесно связаны с гиперпродукцией свободных радикалов и индукцией окислительной дегградации липидов и белков, неотъемлемой частью скринингового изучения биологической активности является изучение острой токсичности, антиоксидантных и мембраностабилизирующих свойств.

Проведенные нами исследования позволили установить, что экстракт корневищ *Petasites hybridus* не оказывает токсического воздействия на клетки парамециев в концентрациях от 1% до 10% и оказывают выраженное антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие, тогда как концентрации от 20% до 100% вызывают токсические эффекты, проявляющиеся в снижении скорости деления клеток, снижении их количества и подвижности.

Токсичность изучаемого экстракта напрямую связана с наличием в химическом составе корневищ *Petasites hybridus* пирролизидиновых алкалоидов. Установлено, что алкалоиды способны вызывать широкий спектр негативных эффектов. Так экспериментальные исследования на животных позволили доказать, что пирролизидиновые алкалоиды способны повреждать ДНК клеток и провоцировать онкологические заболевания [4].

Заключение

Таким образом, проведенные исследования токсических и биологических эффектов экстракта корневищ *Petasites hybridus* свидетельствуют о том, что их выраженность зависит от концентрации экстрактов: низко разведенные экстракты оказывают антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект, тогда как высокие концентрации оказывают токсическое воздействие на *Paramecium caudatum*. Полученные результаты могут быть использованы как пилотные при проведении изучения профиля безопасности данного растения в дополнительных экспериментальных исследованиях на животных моделях с целью разработки на его основе лекарственных средств.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Woo H.S. Bakkenolides and caffeoylquinic acids from the aerial portion of *Petasites japonicus* and their bacterial neuraminidase inhibition ability. / H.S. Woo, K.C. Shin, J.Y. Kim et al. // *Biomolecules*. – 2020. – № 6. – p. 888. – DOI: 10.3390/biom10060888
2. Lee J.S. Chemical Constituents of the Leaves of Butterbur (*Petasites japonicus*) and Their Anti-Inflammatory Effects. / J.S. Lee, M. Jeong, S. Park et al. // *Biomolecules*. – 2019. – № 12. – p. 806. – DOI: 10.3390/biom9120806
3. Байтман Т.П. Оценка биологической активности растительных экстрактов по показателю LC50 в экспериментах *in vitro* на примере экстрактов таволги, белокопытника и зюзьника. / Т.П. Байтман // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2017. – № 6. – с. 1270–1272.
4. Mihajilov-Krstev T. Phytochemistry, toxicology and therapeutic value of *Petasites hybridus* Subsp. *Ochroleucus* (Common Butterbur) from the Balkans. / T. Mihajilov-Krstev, B. Jovanović, B. Zlatković et al. // *Plants (Basel)*. – 2020. – № 6. – p. 700. – DOI: 10.3390/plants9060700
5. Kulinowski L. A review on the ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of butterbur species (*Petasites* L.). / L. Kulinowski, S.V. Luca, M. Minceva et al. // *J Ethnopharmacol*. – 2022. – № 293. – p. 115263. – DOI: 10.1016/j.jep.2022.115263
6. Guo L. S-Petasin isolated from *Petasites japonicus* exerts anti-adipogenic activity in the 3T3-L1 cell line by inhibiting PPAR- γ pathway signaling. / L. Guo, K. Li, Z. Cui et al. et al. // *Food Funct*. – 2019. – № 7. – p. 4396–4406. – DOI: 10.1039/c9fo00549h
7. Alhusayan R.M. Butterbur (*Petasites hybridus*) extract Ameliorates Hepatic Damage Induced by Ovalbumin in Mice. / R.M. Alhusayan, B.A. Aldahmash, D.M. El-Nagar et al. // *Oxid Med Cell Longev*. – 2020. – № 2020. – p. 3178214. – DOI: 10.1155/2020/3178214
8. Kitajima M. New otonecine-type pyrrolizidine alkaloid from *Petasites japonicus*. / M. Kitajima, K. Okabe, M. Yoshida et al. // *J Nat Med*. – 2019. – 3. – p. 602–607. – DOI: 10.1007/s11418-019-01285-9
9. Hiemori-Kondo M. Antioxidant compounds of *Petasites japonicus* and their preventive effects in chronic diseases. / M. Hiemori-Kondo // *J Clin Biochem Nutr*. – 2020. – № 1. – p. 10–18. – DOI: 10.3164/jcbn.20-58
10. Журавлева С.В. Белокопытник японский – источник БАВ для функциональных продуктов / С.В. Журавлева, Т.М. Бойцова – Владивосток: Дальнаука, 2016. – 7 с.
11. Демидова Е.И. Отдельное фармакогностическое изучение нефармакопейных лекарственных растений: белокопытник гибридный и полынь обыкновенная. / Е.И. Демидова, А.Н. Кисилёва, К.А. Стрельчева и др. // Смоленский медицинский альманах. – 2017. – № 1. – с. 108–112.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Woo H.S. Bakkenolides and caffeoylquinic acids from the aerial portion of *Petasites japonicus* and their bacterial neuraminidase inhibition ability. / H.S. Woo, K.C. Shin, J.Y. Kim et al. // *Biomolecules*. – 2020. – № 6. – p. 888. – DOI: 10.3390/biom10060888
2. Lee J.S. Chemical Constituents of the Leaves of Butterbur (*Petasites japonicus*) and Their Anti-Inflammatory Effects. / J.S. Lee, M. Jeong, S. Park et al. // *Biomolecules*. – 2019. – № 12. – p. 806. – DOI: 10.3390/biom9120806
3. Bajtman T.P. Оценка биологической активности растительных экстрактов по показателю LC50 в экспериментах *in vitro* на примере экстрактов таволги, белокопытника и зюзьника [Assessment of biological activity of plant extracts by LC50 parameter in *in vitro* experiments on the example of meadowsweet, butterbur and zuznyk extracts]. / T.P. Bajtman // Бюллетень медицинских интернет-конференций [Medical Internet Conference Bulletin]. – 2017. – № 6. – p. 1270–1272. [in Russian]
4. Mihajilov-Krstev T. Phytochemistry, toxicology and therapeutic value of *Petasites hybridus* Subsp. *Ochroleucus* (Common Butterbur) from the Balkans. / T. Mihajilov-Krstev, B. Jovanović, B. Zlatković et al. // *Plants (Basel)*. – 2020. – № 6. – p. 700. – DOI: 10.3390/plants9060700
5. Kulinowski L. A review on the ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of butterbur species (*Petasites* L.). / L. Kulinowski, S.V. Luca, M. Minceva et al. // *J Ethnopharmacol*. – 2022. – № 293. – p. 115263. – DOI: 10.1016/j.jep.2022.115263
6. Guo L. S-Petasin isolated from *Petasites japonicus* exerts anti-adipogenic activity in the 3T3-L1 cell line by inhibiting PPAR- γ pathway signaling. / L. Guo, K. Li, Z. Cui et al. et al. // *Food Funct*. – 2019. – № 7. – p. 4396–4406. – DOI: 10.1039/c9fo00549h
7. Alhusayan R.M. Butterbur (*Petasites hybridus*) extract Ameliorates Hepatic Damage Induced by Ovalbumin in Mice. / R.M. Alhusayan, B.A. Aldahmash, D.M. El-Nagar et al. // *Oxid Med Cell Longev*. – 2020. – № 2020. – p. 3178214. – DOI: 10.1155/2020/3178214
8. Kitajima M. New otonecine-type pyrrolizidine alkaloid from *Petasites japonicus*. / M. Kitajima, K. Okabe, M. Yoshida et al. // *J Nat Med*. – 2019. – 3. – p. 602–607. – DOI: 10.1007/s11418-019-01285-9

9. Hiemori-Kondo M. Antioxidant compounds of *Petasites japonicus* and their preventive effects in chronic diseases. / M. Hiemori-Kondo // *J Clin Biochem Nutr.* – 2020. – № 1. – p. 10–18. – DOI: 10.3164/jcbn.20-58
10. Zhuravleva S.V. Belokopy'tnik yaponskij – istochnik BAV dlya funkcional'ny'x produktov [Belokopytnik Japanese source BAV for functional products] / S.V. Zhuravleva, T.M. Bojczova – Vladivostok: Dal'nauka, 2016. – 7 p. [in Russian]
11. Demidova E.I. Otdel'noe farmakognosticheskoe izuchenie nefarmakopejny'x lekarstvenny'x rastenij: belokopy'tnik gibridny'j i poly'n' oby'knoennaya [Separate pharmacognostic study of non-pharmacopoeial medicinal plants: hybrid and common wormwood]. / E.I. Demidova, A.N. Kisilyova, K.A. Strely'cheva et al. // *Smolenskij medicinskij al'manax* [Smolensk Medical Almanac]. – 2017. – № 1. – p. 108–112. [in Russian]