УДК 76.03.31, 616-092.9, 616-03, 616-091.8, 577.125.8, 57.017.3
©Коллектив авторов

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕХАНИЗМЫ ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ РОЗМАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ЛЮТЕОЛИНА И ЕГО СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

А.М. Попов[1,2]*, О.Н. Кривошапко[1], А.А. Климович[1], А.А. Артюков[1]

[1]Тихоокеанский институт биоорганической химии (ТИБОХ) имени Г.Б. Елякова ДВО РАН, 690022, Владивосток, пр. 100 лет Владивостоку, 159; тел.: 8(423)231-16-61; факс: 8(423)231-40-50; эл. почта: popovam@piboc.dvo.ru, krivoshapkoon@mail.ru, artyukova@mail.ru
[2]Дальневосточный федеральный университет, 690000, Владивосток, ул. Октябрьская, 27

Обобщены результаты недавних экспериментальных исследований биологической активности и механизмов лечебного действия розмариновой кислоты, лютеолина и его сульфатированных производных при заболеваниях, связанных с нарушением углеводного и липидного обмена. Особое внимание уделено данным, показывающим высокий терапевтический потенциал этих соединений при профилактическом и лечебном применении при экспериментальном сахарном диабете 2-го типа и гиперлипидемии. На основании анализа полученных нами результатов и литературных данных предложены предполагаемые механизмы лечебного действия розмариновой кислоты, лютеолина и его сульфатированных производных.

Ключевые слова: флавоноиды, лютеолин, розмариновая кислота, диабет, гиперлипидемия, атеросклероз

DOI: 10.18097/PBMC20166201022

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы пристальное внимание исследователей привлечено к изучению нарушений липидного и углеводного обмена как этиологического фактора развития сахарного диабета 2-го типа (СД2) и атеросклероза. Миллионы людей в мире страдают от этих заболеваний, которые являются основным источником смерти [1, 2]. Широкое развитие получила концепция метаболического синдрома (МС) [2], в рамках которой определённые типы гиперлипидемии и нарушение толерантности к глюкозе рассматриваются в тесной взаимосвязи. Поэтому поиск новых эффективных, малотоксичных и доступных средств профилактики и дополнительной терапии СД2 и гиперлипидимии среди природных источников биологически активных веществ (БАВ), обладающих разными механизмами защитного действия, является важнейшей задачей современной медицины [3-7].

Морские организмы являются богатым источником новых природных соединений. К настоящему времени в мире выделено и идентифицировано более 20-ти тысяч низкомолекулярных природных морских БАВ, которые часто отличаются от вторичных метаболитов наземных организмов как химическим строением, так и особенностями биологического действия. Разнообразие химических структур, высокая биологическая активность и перспективы их эффективного терапевтического применения – всё это привлекает к веществам морского происхождения большое внимание [4].

В настоящем обзоре проведён краткий анализ опубликованных наших и других экспериментальных данных и высказаны предположения относительно возможных механизмов противодиабетического действия полифенольного комплекса (ПФК), выделенного из морских трав рода *Zostera* (*Z. marina* и *Z. asiatica*), и его основных компонентов: розмариновой кислоты (РК), лютеолина (ЛТ) и его дисульфатированного производного 7,3'-дисульфат лютеолина (ДСЛ), химические структуры которых представлены на рисунке 1.

Изучение химического состава ПФК из морских трав рода *Zostera* было проведено с использованием методов высоко эффективной жидкостной хроматографии (рис. 2).

Как показано на рисунке 2, доминирующую часть ПФК составляют РК (около 45%) и моно- и дисульфатированные производные ЛТ (около 45%), а остальные около 10% составляют биофлавоноиды: ЛТ, апигенин и другие. В лаборатории биотехнологии ТИБОХ ДВО РАН была разработана технология получения ДСЛ (рис. 1в) из морских трав рода *Zostera* и проведены его развернутые фармакологические испытания на экспериментальных животных моделях в сравнении с флавоном ЛТ и другими коммерческими препаратами [8-10].

В связи с этим в настоящем обзоре мы сфокусировали свое внимание на последних данных исследований биологических свойств основных составных компонентов ПФК, в частности РК, ЛТ, поскольку в изучении их молекулярных механизмов действия в последнее время отмечен особенно значительный прогресс. Кроме этого, мы предприняли попытку разобраться, почему ДСЛ по ряду фармакологических свойств проявляет большую активность, чем ЛТ. Это поможет дальнейшей разработке на основе ДСЛ эффективных средств дополнительной терапии, пригодных для применения при СД2 и МС.

* - адресат для переписки

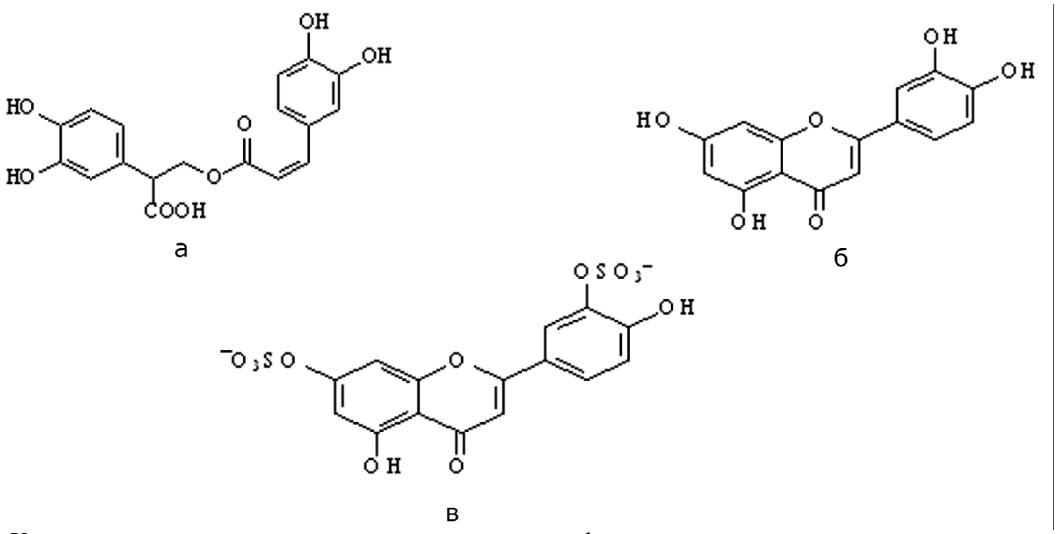

Рисунок 1. Химические структуры основных компонентов полифенольного комплекса из морских трав рода *Zostera*. (а) - розмариновая кислота (3-(3,4-дигидроксифенил)-1-оксо-2Е-пропенил]окси]-3,4-d-бензенпропионовая кислота), (б) - лютеолин (лютеолин - 5,7,3',4'-тетраоксифлавон), (в) - 7,3'-дисульфат лютеолина.

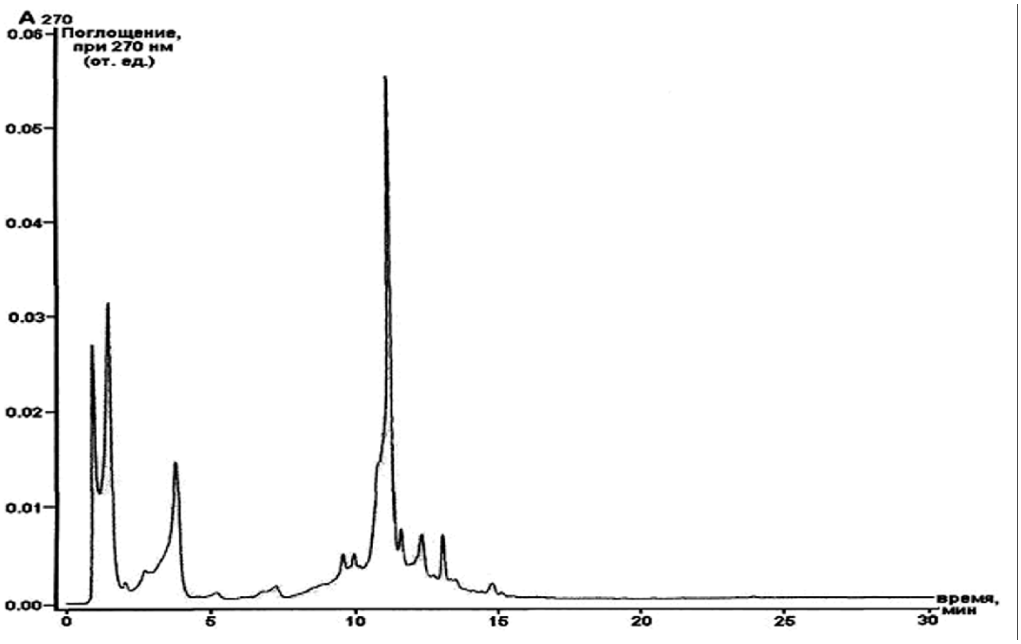

Рисунок 2. Состав полифенольного комплекса, полученного из морской травы *Zostera marina*, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Основные пики: 0,91 - соли; 9,81 - неизвестные вещества; 12,48 - сульфаты лютеолина; 12,83 - розмариновая кислота; 14,88 - лютеолин; 15,54 - апигенин.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ РК, ЛТ И ЕГО АНАЛОГОВ

Действие на сигнальные пути рецепторов-активаторов пролиферации пероксисом (РАПП)

Как показали наши исследования с использованием экспериментальных животных моделей гипергликемии (модель аллоксанового диабета) и гиперлипидемии (тилоксаполовая модель), ПФК из морских трав рода *Zostera* обладает выраженным противодиабетическим и противогиперлипидемическим действием, способствуя существенной нормализации клинических показателей в плазме крови по сравнению с нелеченными животными. Лечебное действие самого комплекса и его отдельных компонентов чаще всего было более выраженным, чем у известных коммерческих препаратов, применяемых при патологиях, связанных с МС (глибенкламид, метформин, никотиновая кислота) и использованных нами в качестве положительного контроля [5-7]. Высокая терапевтическая активность ПФК, несомненно, определяется лечебными свойствами его основных компонентов: РК, ЛТ и ДСЛ, биологическая активность и возможные механизмы действия которых рассмотрены ниже. Фенолпропаноид РК, флавон ЛТ и его аналоги обладают выраженной антиоксидантной, противовоспалительной активностью, оказывая модулирующее действие на РАППы, которые

являются одними из основных регуляторов липидного и углеводного обмена [5, 6, 11, 12].

Известно несколько изоформ РАПП [4-7]: РАППα, РАППγ (подтипы 1, 2) и РАППβ/РАППδ – это клеточные рецепторы, которые играют ключевую роль в защите от патологий, возникающих при развитии СД2 и МС. РАПП принадлежат классу ядерных рецепторов и регуляторов транскрипции, которая может модулироваться (повышаться или понижаться) при связывании широким кругом низко молекулярных лигандов, включающих некоторые фенольные соединения [13]. Эти ядерные рецепторы играют ключевую роль в качестве молекулярных сенсоров внеклеточных факторов, которые регулируют уровень глюкозы и липидный гомеостаз, а также играют важную роль в протекании других физиологических процессов [14]. Вслед за активацией разные изоформы РАПП формируют гетеродимеры с ретиноид-Х рецепторами, которые могут связываться со звеньями ответа РАПП в промоторных областях экспрессируемых генов и модулировать их транскрипцию. Основной эффект экспрессии и репрессии специфических генов – это увеличение запаса жирных кислот в адипоцитах и, тем самым, уменьшение количества жирных кислот, присутствующих в кровяном русле [4-7, 13, 14].

РАППγ преимущественно экспрессируется в жировой ткани [4-7]. Эндогенными лигандами этого рецептора являются свободные жирные кислоты (СЖК), а некоторые экзогенные лиганды используются как лечебные средства для лечения СД2 [12]. Антагонисты РАППγ препятствуют ожирению и обладают противодиабетической активностью [13]. Кроме этого, они снижают адгезию моноцитов на эндотелиальных клетках и уменьшают воспалительное действие макрофагов. Активация РАППγ изменяет экспрессию генов, вовлечённых в такие метаболические процессы как адипогенез, передача инсулинового сигнала и транспорт глюкозы, что приводит к снижению резистентности тканей к действию инсулина на клетки-мишени [15]. РК и ЛТ являются лигандами РАППγ с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами [4-7, 12, 13, 15].

Результаты ряда исследований позволяют предположить, что РК может функционировать как РАППγ антагонист, который ингибирует адипогенез и РАППγ-зависимую экспрессию генов [12], а ЛТ может функционировать либо как РАППγ агонист (увеличивает экспрессию РАППγ-зависимых генов в адипоцитах) [16], либо – РАППγ антагонист [12, 17]. В отличие от современных противодиабетических и противогиперлипидемических препаратов тиазолидиндионов (ТЗД), ЛТ при действии на РАППγ не содействует дифференцировке адипоцитов. ЛТ обладает слабой активностью частичного агониста/антагониста, ингибирует некоторые гены-мишени РАППγ и РАППγ-зависимый адипогенез [5], но подобно розиглитазону активирует транспортер глюкозы GLUT4, что подразумевает ген-специфический частичный агонизм [6]. Считается, что ЛТ может быть полезным для разработки безопасных селективных модуляторов РАППγ [5, 6, 18].

Гликозиды ЛТ, введенные *per os*, гидролизуются β-глюкозидазой до ЛТ, а затем всасываются в кровь в виде таких конъюгированных метаболитов, как глюкурониды и сульфаты ЛТ. Вместе с тем, концентрация свободных агликонов в крови людей очень низкая [19]. Важно подчеркнуть, что глюкурониды показывают аддитивный РАППγ-трансактивирующий эффект при совместном применении с троглитазоном, представителем класса полных агонистов РАППγ [20], используемых в качестве противодиабетических средств. Аддитивный эффект может означать, что глюкурониды ЛТ активируют РАППγ другим способом, чем троглитазон. Механизмы активации РАППγ глюкуронидами ЛТ и троглитазоном, вероятно, отличаются из-за существующих различий в участках связывания этих соединений на РАППγ [20].

Таким образом, РАППγ является одной из мишеней терапевтического воздействия РК, ЛТ и некоторых его структурных аналогов и конъюгатов. ТЗД (пиоглитазон, росиглитазон) и фибраты селективно действуют на РАППγ [21], которые являются их мишенями при лечении СД2. Полные агонисты РАППγ ТЗД являются эффективными средствами, повышающими чувствительность к инсулину и обладающими противовоспалительной активностью [22], но их использование ограничено из-за их побочных эффектов. Основные побочные эффекты всех ТЗД – это задержка воды в организме, ведущая к отёку. Следовательно, ТЗД следует назначать с большой осторожностью и предупреждать больных о его отрицательных свойствах [21, 22]. Поэтому поиск других эффективных и безопасных лечебных средств остается актуальным до настоящего времени.

Противовоспалительная и антиоксидантая активность РК, ЛТ и его аналогов

Воспаление считается потенциальным механизмом развития патологических процессов, таких как резистентность к инсулину, сердечно-сосудистые заболевания и СД2. РК и ЛТ, как основные компоненты ПФК, могут модулировать воспалительные реакции в организме животных, действуя через различные (РАПП-зависимые и независимые) механизмы, которые как зависят, так и не зависят от РАПП, но регулируются многими факторами транскрипции; то есть механизм действия этих фенольных соединений носит в значительной степени плейотропный характер [19, 23, 24].

При чрезмерном накоплении продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме развиваются повреждения мембранных липидов, липопротеинов и белков, происходит инактивация ряда ферментов, что приводит к нарушениям структурно-функциональной организации клеточных мембран. Поэтому при проведении терапии СД2 и МС в механизмах лечебного действия применяемых лечебных средств большую роль играет их противовоспалительный и антиоксидантный потенциал, что в полной мере относится к основным компонентам ПФК – РК, ЛТ и его сульфатированным производным [4, 7].

Известно, что ЛТ ингибирует появление патологий, индуцированных активными формами кислорода (АФК), и рассматривается в качестве антиоксиданта, имеющего разные механизмы биологического действия. Во-первых, ЛТ функционирует как поглотитель АФК через собственное окисление [23]. ЛТ имеет структурные элементы, необходимые для антиоксидантной активности флавоноидов: гидроксильные группы в 3',4'-положениях, присутствие двойной связи между атомами углерода в положении 2 и 3, и карбонильной группы в положении 4 [24]. Атомы водорода из гидроксильных групп ароматических колец могут быть "пожертвованы" свободным радикалам. Как ароматическое соединение, ЛТ может поддерживать неспаренные электроны вокруг М-электронной системы. Прямое доказательство того, что ЛТ, является перехватчиком АФК, было получено в бесклеточных системах [25].

Во-вторых, ЛТ ингибирует АФК-генерирующие оксидазы. Например, ЛТ подавляет формирование супероксид-аниона ($O_2^{\bullet-}$) путём ингибирования активности ксантиноксидазы [26]. Тем не менее, остается неясным, влияет ли ЛТ на образование АФК в митохондриях клеток млекопитающих, основном месте образования АФК, хотя он проявляет активность в отношении митохондриальной электронно-транспортной цепи в паразитарных клетках [27].

В-третьих, ЛТ может оказывать своё антиоксидантное действие путём защиты или усиления таких эндогенных антиоксидантов, как глутатион-S-трансфераза, глутатионредуктаза, супероксиддисмутаза и каталаза [28]. Недавно было показано, что ЛТ увеличивает уровни эндогенных мРНК и белка транскрипционного ядерного фактора Nrf2 (эритроид-2 p45-связанный фактор 2) – ключевого внутриклеточного регулятора адаптивного ответа через широкую сеть цитопротективных ферментов и генов, служащих мишенью для Nrf2 [29]. ЛТ значительно и дозо-зависимо уменьшает продукцию оксида азота (NO), индуцибельной NO-синтазой (iNOS) и тормозит цитозольную фосфолипазу А2 (цФЛА2), активность которых возрастала при обработке клеток 1 мкг/мл липополисахарида (ЛПС) в течение 24 ч [29]. Таким образом, ЛТ значительно активирует антиоксидатное звено ответа (ARE) фосфоинозитид 3-киназной системы (PI3K)/Nrf2, и эта активация может быть ответственна за его противовоспалительный эффект, что демонстрирует супрессия индуцированного ЛПС синтеза NO, iNOS и цФЛА2 [29].

В-четвёртых, ЛТ может непосредственно ингибировать ферменты, которые катализируют окисление клеточных компонентов. Например, ЛТ подавляет образование малонового диальдегида в липидах печени, стимулируемое липоксигеназой, циклооксигеназой и аскорбиновой кислотой [30].

Наконец, ЛТ может хелатировать ионы металлов с переменной валентностью, ответственных за продукцию АФК и, следовательно, ингибировать липоксигеназную реакцию или подавлять зависимое от металлов окисление [30].

ЛТ может проявлять антиоксидантные свойства *in vivo*. Например, ЛТ может осуществлять ингибирование ЛПС-индуцированной продукции гидроксил-аниона ($^{\bullet}OH$) в макрофагах путём улавливания $O_2^{\bullet-}$ или подавления активности ксантиноксидазы, или комбинацией этих механизмов [31].

Важно подчеркнуть, что РК заметно превосходит известные антиоксиданты, включая ЛТ, в тестах по антиоксидантной активности в системах (Hb-H_2O_2-люминол) и (2,2'-азобис(2-метил-пропионамидин) дигидрохлорид – люминол), а также по ингибированию перекисного окисления линолевой кислоты [32]. По уровню антиоксидантной активности исследуемые вещества могут быть выстроены в следующий ряд: РК > дигидрокверцетин > ЛТ > тролокс > аскорбиновая кислота. Молекулы РК локализуются, главным образом, в области полярных групп липидного бислоя, но без значимого влияния на его структурно-функциональные свойства: РК не вызывает достоверного изменения проницаемости плоских бислойных мембран в диапазоне доз от 0,5 до 10 мкг/мл. Для полного предотвращения ПОЛ вполне достаточно спонтанного включения 1 моль% РК в липидный бислой [32]. В основе антиоксидантного действия РК лежит её способность ингибировать стадию инициации свободнорадикальных реакций ПОЛ, во многом, обусловленного образованием АФК [32].

Выраженная актиоксидантная активность РК имеет положительное значение особенно при развитии окислительного стресса в различных биологических системах. В механизмах повреждения и защиты при окислительном стрессе важную роль играет процесс ПОЛ [33]. Окислительный стресс, а также воспалительные процессы являются источником сосудистых осложнений при СД2. РК защищает ультраструктуру и функциональную активность аорты против повреждений, вызванных СД2 [34]. Как оказалось, в механизмах этой защиты важную роль играют как антиоксидантные, так и противовоспалительные свойства РК [34].

ЛТ также известен как противовоспалительный и цитопротективный агент. Он успешно применяется при таких заболеваниях, как СД2, МС и ожирение, которые связаны с распространением хронической воспалительной реакции. Эта реакция характеризуется увеличением инфильтрации макрофагов, изменением продукции цитокинов и активацией воспалительного сигнального пути в жировой ткани. При ожирении повышаются концентрации жирных кислот, в частности, насыщенных СЖК. Эти кислоты как лиганды толл-подобных рецепторов 4 (TLR4), рецепторов ЛПС, непосредственно вызывают воспалительные реакции в макрофагах. Расположенные вниз по течению от TLR4 сигнальные пути ядерного фактора NF-κB (энхансер каппа-лёгкой цепи из активированных В-клеток) и C-Jun N-концевой киназы (JNK) представляют собой важные модуляторы экспрессии генов воспаления во многих типах клеток, включая макрофаги. Адипоциты и макрофаги, взаимодействуя таким паракринным путём, образуют

порочный цикл воспаления, что увеличивает рост воспалительных реакций и резистентности к инсулину в тучных клетках жировой ткани [35-37]. Вполне естественно, что фармакологические агенты, способные остановить каскад воспалительных реакций на молекулярном уровне, обладают противодиабетическими свойствами. Так, ЛТ ингибирует освобождение фактора некроза опухоли-α (ФНОα) и активацию ядерного фактора NF-κB в макрофагах, индуцируемых ЛПС, уменьшает уровни мРНК TNFα, интерлейкина-6 (ИЛ-6) и моноцитарного хемотаксического фактора-1 (МХФ-1). При стимуляции инсулином он усиливает потребление глюкозы адипоцитами, увеличивает экспрессию генов адипонектина и лептина, но особенно чётко в присутствии ЛТ возрастает транскрипционная активность РАППγ [38, 39].

Таким образом, ЛТ уменьшает инсулиновую резистентность в жировых тканях при ожирении, то есть другими словами, выступает как важный коррегирующий агент на клеточном и молекулярном уровне при нарушениях, связанных с СД2.

Стойкая гипергликемия и повышенный уровень СЖК способствуют окислительному стрессу, который представляется непосредственной причиной для возникновения и прогрессирования СД2 и его осложнений [40]. При моделировании СД2 на крысах (очень жирная пища и стрептозотоцин) пероральное введение РК (100 мг/кг) значительно увеличивает чувствительность к инсулину, тогда как уровни глюкозы, гликированного гемоглобина, гликирования конечных продуктов, ФНОα, ИЛ-1β, ИЛ-6, NO, p-JNK, P38 митоген-активируемых протеин киназ и NF-κB в плазме крови значительно уменьшаются с сопутствующим подъёмом уровня инсулина у диабетических крыс. Более того, лечение РК значительно уменьшает уровни триглицеридов, СЖК, холестерина и ПОЛ в плазме крови и поджелудочной железе этих крыс. Сниженные активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы и уменьшенные уровни плазматических церулоплазмина, витаминов С и Е и восстановленного глутатиона у диабетических крыс были в значительной степени нормализуются при лечении РК [40]. Это указывает на высокий терапевтический потенциал РК, который подтверждается возросшим уровнем Nrf2 [40].

Гистологические, ультраструктурные и иммуногистохимические данные показывают, что пероральное введение РК защищает β-клетки поджелудочной железы от окислительного стресса, вызываемого очень жирной пищей и стрептозотоцином при экспериментальном моделировании диабета. Можно предположить, что пероральное введение РК снижает проявления диабета, прежде всего, благодаря её антиоксидантному потенциалу [33, 41].

На рисунке 3 представлена схема возможных изменений в функционировании сигнального пути экспрессии генов воспаления при диабете под действием РК, ЛТ и его аналогов.

Сходный с РК и ЛТ механизм действия имеет метформин – наиболее широко применяемый препарат при лечении СД2. Метформин блокирует синтез фактора транскрипции NF-κB, который контролирует синтез определённых молекул, принимающих участие в генерации воспалительных ответов [42]. Не менее важен тот факт, что метформин также активирует синтез Nrf2, который контролирует экспрессию многих ферментов антиоксидантной защиты организма. Эти ферменты улавливают АФК, останавливая активность макрофагов, которые при отсутствии должного контроля могут вызывать гибель панкреатических β-клеток при диабете [42].

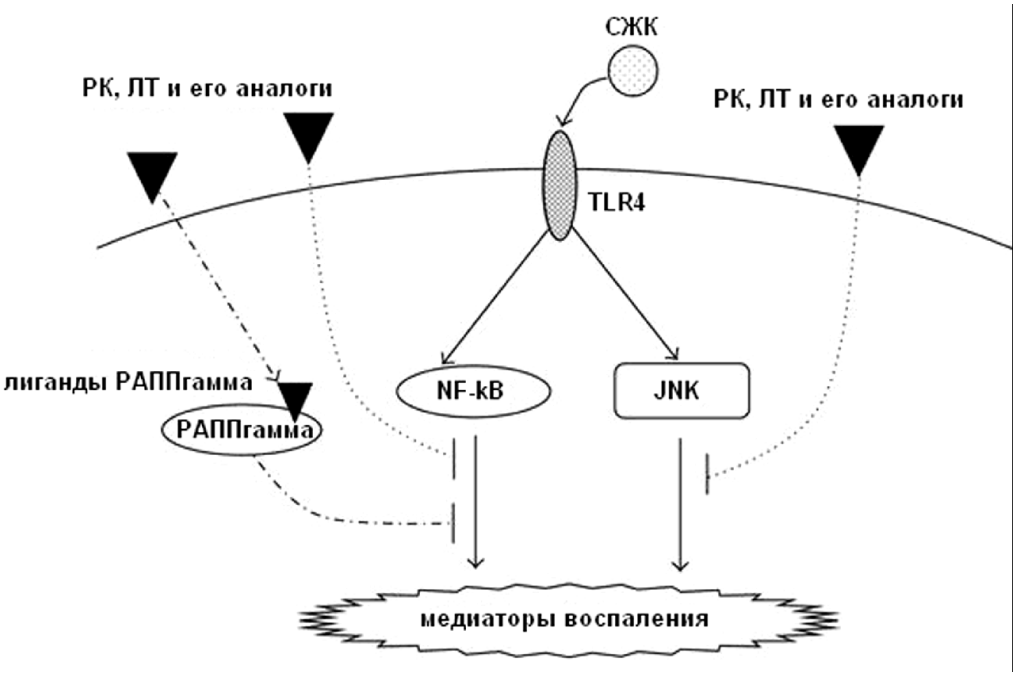

Рисунок 3. Сигнальные пути экспрессии воспаления при СД2 и МС и стратегия лечения этих патологий ыс использованием РК, ЛТ и его аналогов.

Следует отметить, что кроме действия через РАПП-зависимые и независимые сигнальные пути, РК, ЛТ и его аналоги проявляют лечебную активность, действуя по другим внутриклеточным сигнальным и биохимическим путям, а именно: 1) ингибируют образование ферментов (ФЛА2, циклооксигеназы, липоксигеназы), принимающих участие в образовании эйкозаноидов. Вследствие этого уменьшается содержание провоспалительных молекул (простагландинов, лейкотриенов); 2) ингибируют факторы активации транскрипции, модулирующие экспрессию провоспалительных генов (циклооксигеназы-2, iNOS, ФНОα, а также ИЛ-1β и -6) [4-9, 13], что и отражено на рисунке 4.

Механизмы, лежащие в основе этих свойств, не полностью понятны, но отчасти объясняются редокс-свойствами этих соединений. По-видимому, они могут в различных клеточных системах вступать в окислительно-восстановительные реакции, выполняя функции как доноров, так акцепторов электронов и протонов. Редокс-свойства РК, ЛТ и большинства фенольных соединений не ограничиваются только их антиоксидантной и противовоспалительной активностью. Более того, показано, что ЛТ при действии на клетки в низких концентрациях проявляет прооксидантные свойства [19]. Проведённые нами экспериментальные исследования на модели аллоксанового диабета по комбинированному применению ПФК из морских трав рода *Zostera* и его основных компонентов РК и ДСЛ с метформином не привели к положительному результату: мы не наблюдали ни синергического, ни аддитивного эффекта. Важно подчеркнуть, что протективная активность ПФК была выше, чем активность его основных компонентов РК и ДСЛ [4-7].

Иная картина наблюдается при сочетании физических упражнений с лечебным применением антиоксидантов (витаминов С и Е) и метформина. Такого рода комбинированная терапия часто приводит к противоположным физиологическим последствиям [43].

Очевидно, в нормальных и патологических клетках существуют различные механизмы модуляции клеточных сигнальных путей. Например, ЛТ ингибирует JNK в макрофагах, но активирует эти киназы в опухолевых клетках [44]. Кроме того, во время воспаления в эпителиальных клетках и макрофагах ЛТ подавляет активность NF-κB путём ингибирования активации ингибитора NF-κB (IKK). Тем не менее, в опухолевых клетках в присутствии ЛТ, по-видимому, не происходит подавления участия NF-κB в ядерных событиях [45].

Можно предположить, что существуют различные механизмы подавления NF-κB в нормальных и патологических клетках, которые, очевидно, зависят от редокс-статуса этих клеток и/или от редокс-регулирующих свойств действующего фенольного агента, в частности ЛТ.

Особенности противодиабетического действия ДСЛ

Принято считать, что флавоноиды проявляют высокую биологическую активность в чистом виде, а их метаболиты гораздо менее активны и являются, главным образом, “депонированной” формой

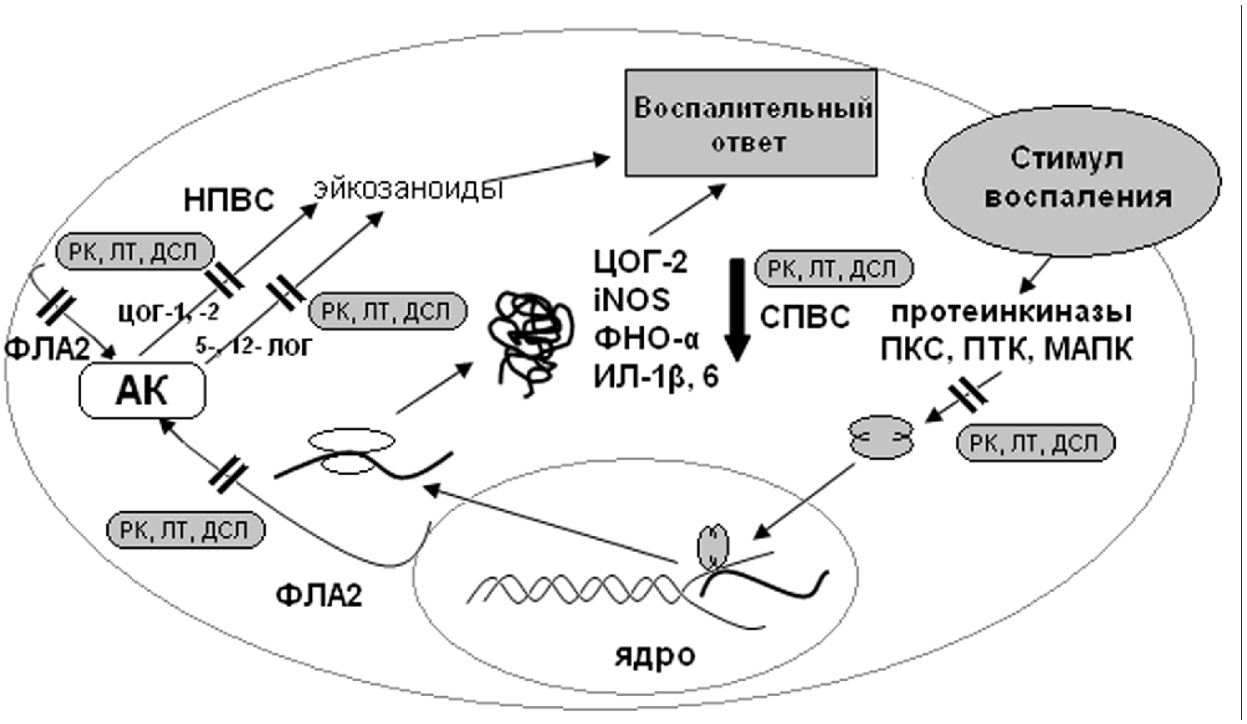

Рисунок 4. Предполагаемые механизмы противовоспалительного действия РК, ЛТ и ДСЛ. НПВС - нестероидные противовоспалительные средства; СПВС - стероидные противовоспалительные средства; ПКС - протеин киназа С; ПТК - протеин тирозин киназа; МАПК - митоген-активируемая протеин киназа; iNOS - индуцибильная NO-синтаза; ЦОГ и ЛОГ - цикло- и липоксигеназа; ФНОα - фактор некроза опухоли α; ИЛ-1β, -6 - интерлейкины-1β, -6; ФЛА2 - фосфолипаза А2; 5-, 12-ЛОГ - 5-, 12-липоксигеназы.

этих препаратов [8, 9]. Однако современные факты противоречат этой догме. Часто сульфатированные, гликозилированные и другие метаболиты не утрачивают активности немодифицированных флавоноидов, в частности, их антиоксидантный и противовоспалительный потенциал. Более того, иногда эффективность протективного действия конъюгированных форм фенольных соединений на некоторые молекулярные мишени в клетках и тканях заметно возрастает по сравнению с нативными, а цитотоксичность уменьшается [8, 9, 46].

Сульфатирование – важный путь метаболизма флавоноидов в растениях. В морских травах семейства *Zosteraceae* (*Zostera marina* и *Z. asiatica*) нами обнаружено значительное количество ДСЛ и разработан доступный способ его получения [7, 8]. В серии наших экспериментов было показано, что фармакологическая активность ДСЛ во многих случаях гораздо выше, чем ЛТ [7-10]. Можно предположить, что ДСЛ – это природная водорастворимая форма ЛТ, которая всасывается в кишечнике и попадает в плазму крови животных и человека, минуя стадии модификации клетками кишечника и печени. Вероятно, ДСЛ обладает меньшим токсическим потенциалом, чем ЛТ, что повышает эффективность его физиологического действия [7-11].

При попадании флавоноидов в организм человека сульфатирование и гликозилирование представляют собой основные пути их метаболической трансформации [8]. Вполне логично предположить, что разработка лечебно-профилактических средств на основе производных флавоноидов представляется не менее перспективной задачей, чем на основе немодифицированных флавоноидов, которые уже сейчас широко применяются в лечебной практике [8, 9].

Проведенная нами серия биологических испытаний сульфатированного конъюгата ЛТ – ДСЛ показала, что он проявляет большую лечебную активность, чем ЛТ при моделировании СД2 и гиперлипидемии [47]. Можно предположить, что подобно ресвератролу сульфатированный ЛТ более эффективно всасывается эпителиальными клетками, чем чистый ЛТ [47]. Нельзя исключать и того, что сульфатированные конъюгаты ЛТ, подобно эстрон сульфату [48], служат неактивным пулом этого флавона, а при гидролизе сульфатазами достигают клеток-мишеней.

Хорошо известен тот факт [8, 49], что органические анионы типа сульфатированных конъюгатов фенольных соединений при содействии специальных транспортеров и сильного градиента протонов обладают повышенной способностью симпортно проникать в эпителиальные клетки кишечника, а затем быстро транспортироваться в плазму крови. Эти специальные транспортеры входят в состав большого семейства транспортеров органических анионов и располагаются на апикальной части мембран эпителиальных клеток малого кишечника, а также других органов [49]. Они ответственны за транспорт большого количества анионных органических молекул, структурно отличающихся друг от друга.

Можно предположить, что ДСЛ способен проникать в плазму крови животных и человека через кишечник, минуя стадии модификации клетками кишечника и печени, что повышает его биоусвояемость и эффективность фармакологического действия. При этом мы предполагаем, что ДСЛ и ЛТ могут взаимодействовать с одними и теми же рецепторами-мишенями и вызывать фармакологический эффект, как это показано на рисунке 5. Корректность наших представлений проверят дальнейшие исследования.

На рисунке 5 представлены различные варианты взаимодействия ЛТ и ДСЛ с рецепторными белками-мишенями как на плазматической мембране макрофагальных клеток, так и внутри этих клеток.

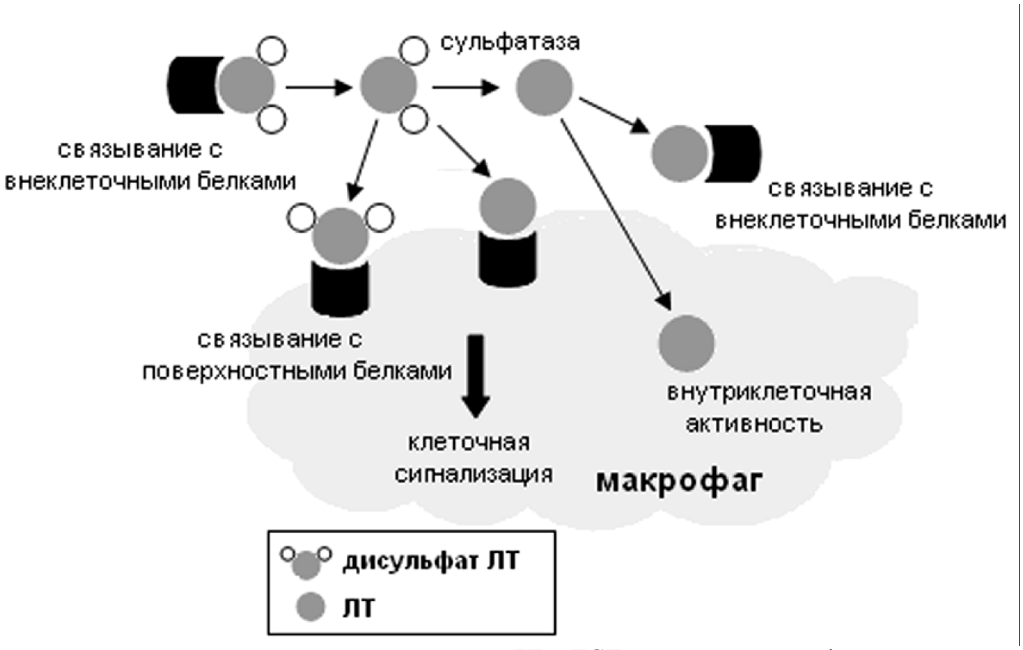

Рисунок 5. Предполагаемые механизмы защитного действия ЛТ и ДСЛ на примере макрофагальных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Воспаление – это системная защитная реакция растений, животных и человека на воздействие патогенных и стрессорных факторов окружающей среды (бактерий, вирусов и индукторов окислительного стресса). В случае растений воспалительная реакция проявляется в виде гиперчувствительного ответа, а у животных и человека – иммунного ответа. Многие полифенольные соединения, включая РК, ЛТ и ДСЛ, в организме-продуценте можно рассматривать как эндогенные защитные средства, которые принимают участие в контроле индуцированного воспалительного процесса.

Поскольку воспаление играет решающую роль в развитии патологий, связанных с СД2, таких как МС, инсулиновая резистентность, сердечно-сосудистые заболевания, ожирение, то вполне объяснимо отраженное в данном обзоре позитивное лечебное действие при применении ПФК из морской травы *Zostera* и его составных компонентов РК, ЛТ и ДСЛ при экспериментальном моделировании СД2 и гиперлипидемии. При использовании РК, ЛТ и ДСЛ в качестве лечебных средств они проявляют высокую антиоксидантую, противовоспалительную и иммуномодулирующую активность. Следует отметить, что, несмотря на отсутствие высокой селективной активности, они оказывают влияние на функциональную активность множества клеточных мишеней и сигнальных путей (плейотропный характер действия), регулируя развитие различных воспалительных реакций путём прямого и опосредованного действия на АФК, а также РАПП-зависимым и РАПП-независимым способом.

Лечебное применение РК, ЛТ и ДСЛ, каждый из которых имеет особенности в механизме противовоспалительного и антиоксидантного действия, в составе ПФК оказывает более выраженный лечебный эффект, чем применение каждого из них отдельно. ПФК и его основные компоненты показывают высокую степень безопасности и отсутствие побочных эффектов. Поэтому использование комбинированных препаратов, действующих на несколько разных мишеней в клетке, представляется полезным подходом для разработки средств дополнительной терапии с целью профилактики и лечения многофакторных метаболических болезней.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Gary F.L., Carpentier A., Adeli K., Giacca A.* (2002) Endocr. Rev., **23**, 201-229.
2. *Turner-McGrievy G., Harris M.* (2014) Curr. Diabete Rep., **14**, 524.
3. *Tuttolomondo A., Maida C., Pinto A.* (2015) World J. Orthop., **6**, 62-76.
4. *Popov A.M., Krivoshapko O.N.* (2013) LAMBERT Academic Publishing: OmniScriptum GmbH & Co. KG Heinrich-Bocking-Str. 6-8, 66121, Saarbrucken, Germany.
5. *Кривошапко О.Н., Попов А.М., Артюков А.А., Костецкий Э.Я.* (2012) Биомед. химия, **58**, 189-198.
6. *Кривошапко О.Н., Попов А.М.* (2011) Вопр. пит., №2, 4-8.
7. *Popov A.M., Krivoshapko O.N.* (2013) J. Biomed. Sci. Engineer., №6, 543-550.
8. *Попов А.М., Кривошапко О.Н., Артюков А.А.* (2012) Биофармацевтический ж., **4**(4), 27-41.
9. *Попов А.М., Кривошапко О.Н., Артюков А.А.* (2011) Биофармацевтический ж., **3**(4), 27-33.
10. *Попов А.М., Артюков А.А., Кривошапко О.Н., Крылова Н.В., Леонова Г.А., Козловская Э.П.* (2011) Патент 2432959 Российская Федерация, МПК A61K36/88, A61K31/352. Средство, обладающее антиоксидантным, кардиопротекторным, противодиабетическим, противовоспалительным, гепатопротекторным, противоопухолевым и противовирусным действием / заявитель и патентообладатель Учреждение РАН Тихоокеан. ин-т биоорган. химии ДВО РАН. - № 2010141686; Заявл. 11.10.10; Опубл. 10.11.11, Бюл. № 31. - 11 с.
11. *Gervois P., Fruchart J.C., Staels B.* (2007) Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab., **3**, 145-156.
12. *Mueller M., Lukas B., Novak J., Simoncini T., Genazzani A.R., Jungbauer A.* (2008) J. Agric. Food Chem., **56**, 11621-11630.
13. *Цыбульский А.В., Попов А.М., Артюков А.А., Костецкий Э.Я., Кривошапко О.Н., Мазейка А.Н., Козловская Э.П.* (2011) Биомед. химия, **57**, 314-325.
14. *Liu Z.M.,Hu M., Chan P., Tomlinson B.* (2015) Expert. Opin. Investig. Drugs, **24**, 611-621.
15. *Xagorari A., Papapetropoulos A., Mauromatis A., Economou M., Fotsis T., Roussos C.* (2001) J. Pharmacol. Exp. Ther., **296**, 181-187.
16. *Ding L., Jin D., Chen X.* (2010) J. Nutr. Biochem., **21**, 941-947.
17. *Park H.S., Kim S.H., Kim Y.S., Ryu S.Y., Hwang J.T., Yang H.J., Kim G.H., Kwon D.Y., Kim M.S.* (2009) Biofactors, **35**, 373-379.
18. *Puhl A.C., Bernardes A., Silveira R.L., Yuan J., Campos J.L., Saidemberg D.M., Palma M.S., Cvoro A., Ayers S.D., Webb P., Reinach P.S., Skaf M.S., Polikarpov I.* (2012) Mol. Pharmacol., **81**(6), 788-799.
19. *Lopez-Lazaro M.* (2009) Mini-Reviews in Med. Chem., **9**(1), 31-59.
20. *Gamo K., Shiraki T., Matsuura N., Miyachi H.* (2014) Chem. Pharm. Bull., **62**(5), 491-493.
21. *Weidner C., Wowro S.J., Freiwald A., Kodelja V., Abdel-Aziz H., Kelber O., Sauer S.* (2014) Mol. Nutr. Food Res., **58**(4), 903-907.
22. *Behzad M., Negah R., Suveer B., Neda R.* (2007) Vasc. Health Risk Manag., **3**, 967-973.
23. *Lien E.J., Ren S., Bui H.H., Wang R.* (1999) Free Radic. Biol. Med., **26**, 285-294.
24. *Nimnual A.S., Taylor L.J., Bar-Sagi D.* (2003) Nat. Cell. Biol., **5**, 236-241.
25. *Shimoi K., Masuda S., Furugori M., Esaki S., Kinae N.* (1994) Carcinogenesis, **15**, 2669-2672.
26. *Nagao A., Seki M., Kobayashi H.* (1999) Biosci. Biotechnol. Biochem., **63**, 1787-1790.
27. *Sen N., Das B.B., Ganguly A., Banerjee B., Sen T., Majumder H.K.* (2006) Exp. Parasitol., **114**, 204-214.
28. *Manju V., Nalini N.* (2005) Ital. J. Biochem., **54**, 268-275.
29. *Robak J., Shridi F., Wolbis M., Krolikowska M.* (1988) Pol. J. Pharmacol. Pharm., **40,** 451-458.
30. *Paredes-Gonzalez X., Fuentes F., Jeffery S., Saw C.L., Shu L., Su Z.Y., Kong A.N.* (2015) Biopharm. Drug Dispos., doi: 10.1002/bdd.1956.
31. *Brown J.E., Rice-Evans C.A.* (1998) Free Radic. Res., **29**, 247-255.

32. *Harris G.K., Qian Y., Leonard S.S., Sbarra D.C., Shi X.* (2006) J. Nutr., **136**, 1517-1521.
33. *Popov A.M., Osipov A.N., Korepanova E.A., Krivoshapko O.N., Artyukov A.A.* (2013) Biophysics, **58**, 607-615.
34. *Sotnikova R., Okruhlicova L., Vlkovicova J., Navarova J., Gajdacova B., Pivackova L., Fialova S., Krenek P.* (2013) J. Pharm. Pharmacol., **65**, 713-723.
35. *Fadel O., El Kirat K., Morandat S. Fadel O., El Kirat K., Morandat S.* (2011) Biochim. Biophys. Acta, **1808**, 2973-2980.
36. *Kawai Y.* (2011) Biosci. Biotechnol. Biochem., **75**, 609-617.
37. *Lee J., Jung E., Kim Y., Lee J., Park J., Hong S., Hyun C.G., Park D., Kim Y.S.* (2006) J. Pharmacol., **148**, 366-375.
38. *Ando C., Takahashi N., Hirai S., Nishimura K., Lin S., Uemura T., Goto T., Yu R., Nakagami J., Murakami S., Kawada T.* (2009) FEBS Lett., 583(22), 3649-3654.
39. *Hirai S., Takahashi N., Goto T., Lin S., Uemura T., Yu R., Kawada T.* (2010) Mediators Inflamm., **2010**, Article ID 367838, 8 p.
40. *Kohle C., Bock K.W.* (2006) Biochem. Pharmacol., **72**(7), 795-805.
41. *Govindaraj J., Sorimuthu Pillai S.* (2015) Mol. Cell Biochem., **404**(1-2), 143-159.
42. *Hirsch H.A., Ilipoulos D., Struhl K.* (2013) Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **110**, 972-977.
43. *Watson J.D.* (2014) Lancet, **383**, 841-843.
44. *Shi R.X., Ong C.N., Shen H.M.* (2004) Oncogene, **23**, 7712-7721.
45. *Ju W., Wang X., Shi H., Chen W., Belinsky S.A., Lin Y.* (2007) Mol. Pharmacol., **71**, 1381-1388.
46. *Mukinda J.T., Syce J.A., Fisher D., Meyer M.* (2010) Ethnopharmacol., **130**, 439-449.
47. *Hoshino J., Park E.J., Kondratyuk T.P., Marler L., Pezzuto J.M., van Breemen R.B., Mo S., Li Y., Cushman M.* (2010) J. Med. Chem., **53**, 5033-5043.
48. *Santner S.J., Feil P.D., Santen R.J.* (1984) J. Clin. Endocrinol. Metab., **59**, 29-33.
49. *Burckhardt G., Burckhardt B.C.* (2011) Handb. Exp. Pharmacol., **201**, 29-104.

Поступила: 12. 05. 2015.
Принята к печати: 21. 09. 2015.

BIOLOGICAL ACTIVITY AND MECHANISMS OF THERAPEUTIC ACTION OF ROSMARINIC ACID, LUTEOLIN AND ITS SULPHATED DERIVATIVES

A.M. Popov[1,2], O.N. Krivoshapko[1], A.A. Klimovich[1], A.A. Artyukov[1]

[1]Elyakov Pacibic Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, 159, 100 Let Vladivostoku av., Vladivostok, 690022 Russia; tel.: 8(423)231-16-61; fax: 8(423)231-40-50; e-mail: popovam@piboc.dvo.ru, krivoshapkoon@mail.ru, artyukova@mail.ru
[2]Far Eastern Federal University, 27 Oktjabrjskaya str., Vladivostok, 690000 Russia

The review considers recent experimental studies of biological activity and mechanisms of therapeutic action of rosmarinic acid, luteolin and its sulfated derivatives in diseases associated with disorders of carbohydrate and lipid metabolism. Particular attention is focused on the results of studies showing a high therapeutic potential of these phenolic compounds in their prophylactic and therapeutic use at experimental modeling of type 2 diabetes and hyperlipidemia. Based on the analysis of our results and the literature data putative mechanisms of therapeutic action of rosmarinic acid, luteolin and its sulfated derivatives have been proposed.

Key words: flavonoids, luteolin, rosmarinic acid, type 2 diabetes, hyperlipidemia, atherosclerosis