

Ж. К. Асанова<sup>1</sup>, Е. М. Сулейменов<sup>1</sup>, Г. А. Атажанова<sup>1</sup>, А. Д. Дембицкий<sup>1</sup>,  
Р. Н. Пак<sup>1</sup>, А. Дар<sup>2</sup>, С. М. Адекенов<sup>1</sup>

## 1,8-ЦИНЕОЛ ИЗ ПОЛЫНИ ЦИТВАРНОЙ И ЕГО БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

<sup>1</sup> Институт фитохимии Министерства образования и науки (Караганда, Республика Казахстан);

<sup>2</sup> Исследовательский институт химии им. Хусейн Ибрагим Джамала, Университет Карачи (Пакистан)

Полынь цитварная (дармине) — *Artemisia cina* Berg. — известна как источник противоглистного средства. В диком виде встречается только в Южно-Казахстанской и Жамбылской областях Казахстана. В надземной части полыни цитварной наряду с сантонином содержится эфирное масло (1,5–3 %), а также бетаин, холин, горькие и красящие вещества [1–2]. Изучение химического состава эфирного масла полыни цитварной начато в 1841 году. В 1884 г. Wallach, Brass, Hell и Stucke установили, что основным компонентом эфирного масла является 1,8-цинеол [3]. Кроме того, в эфирном масле полыни цитварной (ЭМПЦ) в значительных количествах содержатся терпинеол, *n*-цимен,  $\alpha$ - и  $\beta$ -туйоны, борнеол,  $\alpha$ -терпинен,  $\alpha$ - и  $\beta$ -пинены, артемизакетон и др. [4].

Нами проводятся исследования по разработке мягкой лекарственной формы на основе эфирного масла полыни цитварной. Установлено, что данное масло обладает слабыми токсическими свойствами при ингаляторном введении, а также незначительным местно-раздражающим эффектом при накожном применении [5].

Целью данного исследования явилось изучение фармакологических свойств 1,8-цинеола, выделенного из эфирного масла полыни цитварной.

### Экспериментальная химическая часть

Эфирное масло полыни цитварной (ЭМПЦ) получено методом гидродистилляции. Использованы цветочные корзинки, измельченные до 5 мм. Газохроматографический анализ эфирного масла полыни цитварной проводили на хроматографе модели 3700 с плазменно-ионизационным детектором, использовали колонку из нержавеющей стали длиной 2 м с внутренним диаметром 2 мм. В качестве неподвижной фазы применялся силиконовый эластомер SE-30, нанесенный в количестве 5 масс. % на твердый носитель Хроматон N супер (размер частиц 0,125–0,160). Хроматографический анализ проводили в режиме программирования температуры от 60 до 220°C со скоростью 4°C/мин и в изотермическом режиме при 220°C в течение 10 мин. В качестве подвижной фазы использовали инертный аргон: скорость потока газа-носителя 30 мл/мин. Соотношение скоростей потоков водорода и воздуха составило 1 : 10. Вводимая проба равнялась 1 мкл 2 %-ного раствора ЭМПЦ в диэтиловом эфире. Расчет содержания компонентов эфирного масла полыни цитварной проводили по площади пиков, используя метод внутренней нормализации.

Для выделения 1,8-цинеола использовали ЭМПЦ с содержанием целевого продукта не менее 60 %. Так как 1,8-цинеол обладает значительной устойчивостью, его выделяли ректификационной перегонкой при атмосферном давлении. Отбирали фракции при 177–178°C. Чистоту выделенного 1,8-цинеола определяли методом ГЖХ. В экспериментах использовали целевой продукт с чистотой не менее 98,5 %.

### Экспериментальная биологическая часть

**Антиэкссудативная активность** 1,8-цинеола и ЭМПЦ изучалась на модели каррагенинового отека [6]. Эксперименты проведены на крысах линии Вистар обоего пола, массой 180–200 г. Флоготенный агент — 1 %-ный водный раствор каррагенина вводили субплантарно по 50 мкл через 30 мин после введения тестируемых веществ. ЭМПЦ и 1,8-цинеол вводили энтерально в дозах 50, 100, 200 мг/кг в виде водной эмульсии. В качестве препарата сравнения использовали аспирин (Sigma) в дозе 100 мг/кг. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду в одинаковых по объему количествах. Динамику объема отека регистрировали с помощью водного плетизмометра ежечасно в течение 8 ч. Об антиэкссудативном эффекте судили по степени ингибирования экспериментального отека.

**Анальгетическую активность** изучали на модели “уксусных корчей” [7]. 1,8-цинеол и ЭМПЦ вводили в дозах 50, 100 и 200 мг/кг интраперитонеально в виде водной эмульсии. В качестве растворителя для тестируемых веществ использовали изотонический раствор натрия хлорида. В группе сравнения применяли аспирин в дозе 100 мг/кг, в контроле — 0,9 %-ный раствор натрия хлорида в эквивалентных количествах. В исследовании использовали белых лабораторных мышей весом 20–22 г. Через 30 мин после введения тестируемых веществ животным интраперитонеально вводили 0,9 %-ный раствор уксусной кислоты по 0,25 мл и помещали их в пластиковый бокс. Количество корчей регистрировали с помощью каунтера.

**Цитотоксическую активность** ЭМПЦ и 1,8-цинеола изучали методом выживаемости морских креветок *Artemia salina* (Brine shrimp bioassay) [8, 9]. Для исследования использовали яйца морских рачков *Artemia salina*. Средой выведения морских рачков служил 3,3 % раствор морской соли. 20 мг тестируемого вещества растворяли в 2 мл этанола, из этого раствора отбирали по 500, 50, 5 мкл и разводили 5 мл морской воды до получения следующих концентраций 1000,

**Таблица № 1**  
**Антиэкссудативная активность 1,8-цинеола и ЭМПЦ**

Вариант опыта	Дозы, мг/кг	Объем отека			
		через 4 ч		через 8 ч	
		см <sup>3</sup>	%	см <sup>3</sup>	%
Контроль		0,89 ± 0,04		0,73 ± 0,04	
ЭМПЦ	50	0,44 ± 0,02	50	0,36 ± 0,07	51
	100	0,45 ± 0,04	49	0,34 ± 0,04	53
	200	0,42 ± 0,01	52	0,34 ± 0,03	53
	1,8-цинеол	50	0,75 ± 0,05*	16	0,5 ± 0,08
1,8-цинеол	100	0,77 ± 0,05*	13	0,52 ± 0,05*	29
	200	0,62 ± 0,1	30	0,48 ± 0,1	34
	Аспирин	100	0,42 ± 0,03	53	0,37 ± 0,03

Приведены результаты измерений 10 наблюдений. Все результаты опытных групп достоверно отличаются от показателей контрольной группы  $P < 0,05$ ; \* — достоверность различия с группой сравнения  $P < 0,05$ .

100 и 10 мкг/мл. В каждый флакон, используя пастеровскую пипетку, переносили по 10 личинок. Далее проводили инкубацию при температуре 25 – 27°C в течение 24 ч при искусственном освещении, по окончании которой пересчитывали число выживших личинок. Используя компьютерную программу “Finney”, рассчитывали LD<sub>50</sub> для тестируемых веществ. В качестве препарата сравнения использовали арглабин, зарегистрированный на территории Республики Казахстан в качестве противоопухолевого средства (РК-ЛС-5 № 003950).

Противоопухолевую активность 1,8-цинеола и ЭМПЦ исследовали на опухолевых линиях клеток меланомы (H<sub>157</sub>) и линейной карциномы (HT<sub>144</sub>) мышей сульфородаминным методом (Sulforodamine B assay)

**Таблица № 2**  
**Анальгетическая активность 1,8-цинеола и ЭМПЦ**

Вариант опыта	Доза, мг/кг	Количество корчей	Ингибирование %	
Контроль	–	124 ± 8	–	
Аспирин	100	56 ± 3	54	
	ЭМПЦ	50	42 ± 2*	66
		100	43 ± 2*	66
1,8-Цинеол	200	48 ± 7	62	
	50	60 ± 8	51	
	100	53 ± 2	57	
	200	47 ± 8	62	

Приведены результаты измерений 10 наблюдений. Все результаты опытных групп достоверно отличаются от показателей контрольной группы. \* — достоверность различий с группой сравнения  $P < 0,05$ .

[10]. Тестируемые вещества испытывали в концентрациях от  $1 \cdot 10^{-2}$  до  $1 \cdot 10^{-6}$ . В качестве препарата сравнения использовали противоопухолевое средство арглабин. В контроле применяли 96 % этиловый спирт и димексид, используемые как растворители для ЭМПЦ, 1,8-цинеола и арглабина, соответственно.

Сульфородамин В применяли в концентрации 0,4 % в 1 %-ном растворе уксусной кислоты. Показания оптической плотности определяли при длине волны 515 нм методом спектрометрии (ELISA READER).

#### Результаты и их обсуждение

При изучении противовоспалительных свойств на модели каррагенинового отека выявлено, что 1,8-цинеол обладает слабой антиэкссудативной активностью (30 % ингибирование отека по сравнению с контролем). ЭМПЦ проявило активность, сопоставимую с

**Противоопухолевое действие ЭМПЦ и 1,8-цинеола**

Таблица № 3

Вариант опыта	Дозы	Линия H <sub>157</sub>		Линия HT <sub>144</sub>	
		Оптическая плотность	Ингибирование, %	Оптическая плотность	Ингибирование, %
Контроль (Этанол)		0,792 ± 0,05		0,560 ± 0,01	
Контроль (ДМСО)		0,790 ± 0,003		0,616 ± 0,01	
ЭМПЦ	1 : 10 <sup>-2</sup>	0,153 ± 0,02	81	0,036 ± 0,01	93,5
	1 : 10 <sup>-3</sup>	0,624 ± 0,032	21,2	0,425 ± 0,021	24,1
	1 : 10 <sup>-4</sup>	0,719 ± 0,038	9,2	0,52 ± 0,019	7,1
	1 : 10 <sup>-5</sup>	0,686 ± 0,037	13,3	0,522 ± 0,021	6,8
	1 : 10 <sup>-6</sup>	0,8 ± 0,022	–	0,617 ± 0,005	–
1,8-Цинеол	1 : 10 <sup>-2</sup>	0,037 ± 0,003	95,3	0,0215 ± 0,005	96,2
	1 : 10 <sup>-3</sup>	0,473 ± 0,017	40,2	0,361 ± 0,013	35,5
	1 : 10 <sup>-4</sup>	0,616 ± 0,003	22,2	0,497 ± 0,015	11,25
	1 : 10 <sup>-5</sup>	0,631 ± 0,02	20,3	0,528 ± 0,033	5,7
	1 : 10 <sup>-6</sup>	0,765 ± 0,022	3,4	0,609 ± 0,021	–
Арглабин	1 : 10 <sup>-2</sup>	0,132 ± 0,02	83,2	0,095 ± 0,008	84,5
	1 : 10 <sup>-3</sup>	0,495 ± 0,022	37,3	0,432 ± 0,016	29,8
	1 : 10 <sup>-4</sup>	0,748 ± 0,01	5,3	0,587 ± 0,015	4,7
	1 : 10 <sup>-5</sup>	0,771 ± 0,022	2,4	0,663 ± 0,011	–
	1 : 10 <sup>-6</sup>	0,80 ± 0,008	–	0,624 ± 0,018	–

эффектом аспирина. При этом ни для ЭМПЦ, ни для 1,8-цинеола не отмечено дозозависимого эффекта. Результаты представлены в табл. 1. Анализ полученных результатов показывает, что антиэкссудативный эффект ЭМПЦ не связан с наличием в нем 1,8-цинеола. Вероятно, терапевтическое действие эфирного масла является синергетическим эффектом комбинации других терпеноидов, к примеру борнеола и  $\alpha$ -,  $\beta$ -пиненов, для которых ранее были описаны противовоспалительные свойства [11, 12].

На модели “уксусных корчей” ЭМПЦ и 1,8-цинеол проявили выраженную анальгетическую активность. Эффективность ЭМПЦ составила 62 – 66 %, и превосходила действие аспирина в 1,1 – 1,2 раза. 1,8-цинеол проявил эффективность в среднем 51 – 62 %, что сравнимо с действием препарата сравнения. Результаты приведены в табл. 2. По-видимому, анальгетический эффект ЭМПЦ, связан с наличием в его составе 1,8-цинеола. При этом отмечен дозозависимый терапевтический эффект.

В ходе изучения цитотоксического действия по выживаемости морских рачков *Artemia salina* установлена средне смертельная доза  $LD_{50}$  для ЭМПЦ — 114,4 мкг/мл, для 1,8-цинеола — 190,2 мкг/мл, для препарата сравнения арглабин — 20,6 мкг/мл. Данные результаты свидетельствуют о умеренно выраженных цитотоксических свойствах тестируемых веществ.

Результаты изучения противоопухолевых свойств 1,8-цинеола и ЭМПЦ приведены в табл. 3. ЭМПЦ в концентрации  $1 \times 10^{-2}$  ингибировало рост клеток  $H_{157}$  на 81 %,  $HT_{144}$  на 93,5 %, а 1,8-цинеол в аналогичной дозе тормозил рост  $H_{157}$  и  $HT_{144}$  на 95 и 96 %, соответственно. Арглабин проявил выраженный противоопухолевый эффект на используемых штаммах и его действие было сопоставимо с эффективностью тестируемых веществ.

Таким образом, не отмечено корреляции между умеренно выраженной цитотоксичностью 1,8-цинеола и ЭМПЦ с проявленными ими противоопухолевыми свойствами.

В результате проведенных исследований можно сделать вывод, что 1,8-цинеол обладает умеренно выраженной антиэкссудативной и цитотоксической активностью и ему свойственны значительные анальгетические и противоопухолевые свойства. 1,8-Цинеол практически удобен для стандартизации эфирного масла полыни цитварной и других эфирных масел, которые содержат его в значительных количествах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Бейсенбаева, В. А. Узбеков, К. Д. Рахимов и др., *Фарм. бюл.*, № 5, 18 – 19 (2001).
2. *Атлас лекарственных растений СССР*, Изд-во мед. лит., Москва (1962), с. 460.
3. М. И. Горяев, В. С. Базалицкая, П. П. Поляков, *Химический состав полыней*, Изд-во АН КазССР, Алма-Ата (1962), сс. 129 – 132.
4. М. И. Горяев, *Эфирные масла флоры СССР*, Изд-во АН КазССР, Алма-Ата (1952), с. 37.
5. А. М. Демеубаева, Ж. К. Асанова, Р. Н. Макарова и др., *Фарм. бюл.*, № 10, 36 – 37 (2001).
6. *Доклинические испытания противовоспалительных свойств нестероидных фармакологических веществ (Методические рекомендации)*, Алматы (1997).
7. *Доклинические изучения анальгетического действия новых биологически активных веществ (Методические рекомендации)*, Алматы (2000).
8. A. Taha and H. Alsayed, *Phytotherapy Res.*, **14**, 48 – 50 (2000).
9. B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, et al., *Planta med.*, **45**, 31 – 34 (1982).
10. P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, et al., *J. Nation. Cancer Inst.*, **82**(13), 1107 – 1112 (1990).
11. M. S Jimener, M. A. Ocete, and A. Zaruelo, *Enthnopharmacol. Actes ler coloq. Eur. Ethnopharmacol*, Paris (1990), p. 495.
12. Н. П. Рютин, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Красноярск (1995).

Поступила 05.03.02