

31.08.2020, Warszawa

Barbara Gierlikowska

Katedra Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii

Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Wybrane związki z roślin należących do rodziny Asteraceae:
ocena aktywności biologicznej i mechanizmów działania.**

Rośliny z rodziny Asteraceae, od wieków stosowano w medycynie tradycyjnej w postaci nalewek, naparów i syropów, w leczeniu powikłań chorób wywoływanych infekcjami wirusowymi i bakteryjnymi, takich jak zapalenie zatok, katar, przeziębienie, zapalenie gardła oraz zapalenie oskrzeli i płuc. Wśród przedstawicieli rodziny Asteraceae dokumentowano lecznicze zastosowanie m.in. korzenia omanu wielkiego (*Inula helenium* L.), kwiatu słonecznika zwyczajnego (*Helianthus annuus* L.), ziela krwawnika kichawca (*Achillea ptarmica* L.), korzenia bertramu lekarskiego (*Anacyclus pyrethrum* L.), ziela dogłedy nastroszonej (*Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal), ziela akmeli (*Acmella ciliata* (Kunth) Cass.) oraz ziela sadźca konopiastego (*Eupatorium cannabinum* L.)

Wykorzystując szerokie spektrum modeli komórkowych (neutrofile, makrofagi i komórki śródbłonna), oceniono przeciwzapalne właściwości wytypowanych wyciągów roślinnych, a następnie pojedynczych związków, spośród których wyodrębniono jeden, o największym potencjale terapeutycznym.

Właściwości przeciwzapalne oceniono wykorzystując metody cytometrii przepływowej, mikroskopii fluorescencyjnej oraz pomiarów absorbancji, fluorescencji i chemiluminescencji, analizując wpływ wyciągów roślinnych na ekspresję białek adhezyjnych CD11b/CD18 i CD62L, uwalnianie mediatorów prozapalnych IL-8 i TNF- α , oraz produkcji reaktywnych form tlenu. Wyselekcjonowane pojedyncze związki (eupatoriopikryna, 5'-deoksy eupatoriopikryna oraz hiadorolakton B) przebadano na modelu ludzkich neutrofilii (analogicznie do wyciągów roślinnych), oraz wprowadzono dodatkowy model komórkowy – komórki śródbłonna, na których oceniono wpływ związków na ekspresję białek adhezyjnych ICAM-1, VCAM-1 i E-selektyny oraz oceniono ich wpływ na produkcję IL-1 β i elastazy. Do szczegółowych badań wytypowano eupatoriopikrynę, lakton seskwiterpenowy występujący w ziele sadźca konopiastego. Do oceny aktywności eupatoriopikryny wykorzystano kolejny

model komórkowy – linię komórkową THP-1, na której przebadano immunomodulujące właściwości eupatoriopikryny wspomagające fagocytarne funkcje makrofagów.

Spośród badanych wyciągów roślinnych najsilniejszą aktywność przeciwzapalną wykazały wyciągi z korzenia omanu wielkiego, ziela dogłedy nastroszonej oraz ziela sadzca konopiastego. Wyciągi badane w zakresie stężeń 25-100 $\mu\text{g/ml}$ silnie zredukowały powierzchnię ekspresję białka adhezyjnego CD11b/CD18 oraz mediatorów prozapalnych IL-8 i TNF- α . Spośród badanych związków należących do różnych grup chemicznych: diterpeny, laktony seskwiterpenowe czy alkamid, najsilniejszą modulację prozapalnych funkcji neutrofilii zaobserwowano dla trzech laktonów: eupatoriopikryny, 5’deoksyeupatoriopikryny oraz hiadorolaktonu B, spośród których to eupatoriopikryna okazała się najaktywniejszym związkiem.

By określić potencjał eupatoriopikryny w tym zakresie, badano szczegółowo jej wpływ na prozapalne funkcje ludzkich neutrofilii i komórek śródbłonna. Eupatoriopikryna silnie zredukowała ekspresję białka powierzchniowego CD11b/CD18 co znamienne obniżyło przyleganie neutrofilii do komórek śródbłonna. Dodatkowo, poprzez hamowanie indukowanej za pomocą lipopolisacharydu fosforylacji białek kinaz p38 i ERK1/2, eupatoriopikryna blokowała translokację czynnika transkrypcyjnego p65 z cytozolu do jądra co w konsekwencji prowadziło do silnego tłumienia wydzielania mediatorów prozapalnych (IL-8, TNF- α i IL-1 β), inicjujących tzw. „burzę cytokinową”.

Ponadto, eupatoriopikryna działała silnie immunomodulująco wobec makrofagów THP-1, nie wykazując przy tym cytotoksyczności. Makrofagi inkubowane z eupatoriopikryną w niskim zakresie stężeń znacznie zwiększyły wychwyty gronkowca złocistego *Staphylococcus aureus*, a poprzez obniżenie pH fagosomu nasilały fuzję fagosomów i lizosomów, prowadząc do utworzenia fagolizosomów. Nowo utworzone fagolizosomy działały jako „pH-zależna pułapka” dla gronkowca złocistego. Immunomodulujące właściwości eupatoriopikryny były porównywalne z klarytromycyną.

Uzyskane wyniki wykazały korzystny wpływ eupatoriopikryny na modulację prozapalnych i fagocytarnych funkcji wybranych komórek układu odpornościowego. Badania podstawowe, prowadzone na uproszczonych modelach, przyniosły na tyle interesujące rezultaty, że za celową uważam ich kontynuację, tym razem *in vivo*, na modelu zwierzęcym.

Słowa kluczowe: Asteraceae, *Eupatorium cannabinum* L., eupatoriopikryna, infekcje bakteryjne układu oddechowego, stan zapalny, neutrofile, makrofagi, fagocytoza