

2.2.3 Пути и методы выявления новых лекарственных растений

Пути и методы выявления новых лекарственных растений: химический скрининг, филогенетический принцип (хемосистематический), изучение и использование опыта народной медицины

По подсчетам специалистов, на нашей планете обитает около 300 тыс. видов растений. В одной только Евразии их произрастает не менее 75 тыс. видов. Наиболее богата флора Центральной Азии (около 7 тыс. видов) и Кавказа (около 6 тыс. видов). Значительные богатства отечественной флоры используются пока недостаточно.

Важнейшим условием совершенствования лекарственной службы в стране является наличие каталога лекарственных средств.

При **Пересмотре каталога** учитывается следующее:

- исключаются малоэффективные средства, а также препараты и сырье иностранного происхождения, в импорте которых не было необходимости;
- наряду с этим включаются новые, более эффективные средства отечественного происхождения.

В итоге интенсивного изучения и производственного освоения новых лекарственных растений резко изменилась номенклатура растений, применяемых в современной научной отечественной медицине.

Количество официальных растений увеличилось более чем в 2 раза, причем среди них остались только единичные инородные растения (строфант, чилибуха и др.); свыше 200 видов представлены отечественными растениями (дикорастущими или культивируемыми).

В исследованиях по выявлению новых лекарственных растений ученые используют **несколько** методов:

1 изучение опыта народной и традиционной медицины

Известно, что почти все растения, применяемые в современной научной медицине, были заимствованы из народной медицины.

Начальными этапами изучения народной медицины являются:

- а) проведение специальных или использование попутных (этнографических и др.) экспедиций для сбора сведений путем опроса населения, знакомство со знатоками растений, приобретение образцов и т.п.;
- б) организация корреспондентской сети для сбора литературной информации.

Очень важно уметь из обилия собранной информации отобрать сведения, представляющие наибольший интерес для современной научной медицины и подвергнуть их планомерному изучению.

Вначале необходимо проверить правильность основных лечебных показаний для изучаемого объекта.

Если первичный фармакологический (или биологический) поиск подтвердит достоверность сведений, то **целесообразно дальнейшее изучение растения:**

- фармакогностическое (в первую очередь фитохимическое),
- технологическое (выделение индивидуальных веществ или создание суммарных препаратов),
- фармакологическое (углубленное на базе созданных препаратов) и, наконец, клиническое.

2 более глубокое изучение уже используемых в научной медицине растений

На этот путь исследователей часто подталкивают сведения народной медицины, ранее не известные, они возвращаются к изучению "забытых" лекарственных растений, которые в свое время были даже официальными, а затем вышли из употребления.

3 филогенетический метод

Третий метод — поиски новых лекарственных средств по принципу филогенетического родства. Давно подмечено, что ботанически родственные растения могут иметь аналогичный или весьма близкий химический состав, а следовательно, проявлять подобное фармакологическое действие.

Знание этих биологических закономерностей делает поиск новых лекарственных растений весьма эффективным. Наряду с возникновением исключительно закономерных, хемотаксономических явлений имеются случаи, когда нет полного параллелизма между биохимическими признаками растений и их филогенетическими отношениями.

Наблюдаются также явления химической конвергенции, т.е. возникновения одинаковых веществ в различных группах растений, филогенетически не связанных друг с другом. Однако на современном этапе развития науки о лекарственных растениях накопившихся данных по хемотаксономии уже достаточно для целенаправленного поиска новых ценных растений.

По многим сырьевым объектам напряженность с полным обеспечением растущей потребности обуславливается тем, что заготовка сырья ограничивается лишь одним видом растения, который когда-то был установлен как официальный.

Пользуясь филогенетическим методом, нужно исследовать ближайших "родственников" и тем самым расширить видовой состав сырьевых растений. В настоящее время имеется экспериментальный материал, во многих случаях позволяющий расширить видовой состав лекарственных растений, например видов горицвета, пустырника, зверобоя, термопсиса, галпы и др.

Особенно актуален вопрос о близких видах для стран Центральной Азии и Казахстана, Дальнего Востока, во флоре которых часто отсутствуют принятые лекарственные виды, но произрастают другие близкие виды.

Филогенетические поиски могут успешно проходить и за пределами рода — внутри семейств и даже порядков. Иллюстрацией к этому могут служить, в частности, исследование советских ученых в семействах амариллисовых, лютики и маковые, что закончилось выявлением ряда наиболее интересных алкалоисодержимых растений. Филогенетические закономерности, которые оказались между систематическим положением и его химическим составом, открыли новые поисковые возможности. В частности, фармакогностические — все чаще стали возвращаться к так называемым забытым растениям, химический состав которых в свое время не был раскрыт в результате недостаточности знания химии естественных веществ и несовершенства фитохимических методов исследования.

Филогенетические представления помогли провести целеустремленные фитохимические исследования и вывести «забытые» растения на путь широкого медицинского использования. Как примеры можно привести руту, петрушку, барвинок, и др.

По тем же обстоятельствам в ряде случаев весьма целесообразное возвращение к более глубокому изучению растений, которые уже используются в научной медицине. Есть много фактов, когда подобная «ревизия», проведенная на современном научном уровне, значительно расширила область медицинского использования широко известных лекарственных растений. Характерным примером может служить хотя бы солодка голая.

При филогенетическом методе следует учитывать **наследственную изменчивость накопления, эволюцию ферментных систем вторичного метаболизма.**

Наследственная изменчивость накопления, эволюция ферментных систем вторичного метаболизма. *Генотипическая изменчивость*, обусловленная различиями в генотипе между отдельными особями или разными популяциями одного вида, также характерна для состава и содержания вторичных метаболитов, как и для любых других признаков, используемых в систематике растений.

Так, при изучении наследственной изменчивости накопления антоцианов у девяти линий вида *Mathiola incana*, отличающихся качественным составом этих соединений, было показано, что внутри линий обнаруживаются значительные различия в количественном содержании антоцианов. Поскольку все изученные растения выращивались в идентичных условиях, такое различие может быть только следствием небольших различий в генотипе между особями одной линии.

На примере растений рода *Mentha* было показано, что биосинтез терпеноидов находится под контролем относительно простой генетической системы: доминантная аллель гена Lm блокирует модификацию лимонена в дальнейшие продукты биосинтеза, такие как: ментон, ментол и метилацетат – соединения, обычно накапливаемые растениями рода *Mentha*, у которых данный ген находится в рецессивном состоянии. Кроме того, в *M. citrata* был обнаружен ген I, доминантная аллель которого блокирует биосинтез терпеноидов на еще более ранних стадиях, чем ген Lm, что приводит к накоплению предшественника лимонена – линалина и его ацетатов. Таким образом, один ген может препятствовать накоплению целого спектра соединений одного класса.

В процессе эволюции может происходить различная модификация ферментов, отвечающих за биосинтез вторичных метаболитов, что приводит к появлению большого разнообразия структур одного класса соединений. Так, в настоящее время известно более 6000 различных алкалоидов, около 1400 секвитерпеноидов, не менее 300 небелковых аминокислот. Разнообразие структур соединений одного класса, накапливаемых в изучаемой группе растений, отражает разнообразие существующих путей биосинтеза, знание которого необходимо при построении таксономической гипотезы.

При анализе информации о наличии и отсутствии вторичных метаболитов в изучаемой группе растений, необходимо учитывать, что эти соединения образуются в результате сложного пути биосинтеза, в который вовлечено большое число различных ферментов. Ход биосинтеза одних и тех же соединений может оказаться разным у разных групп растений, что является результатом конвергентной эволюции.

4 Уровень накопления вторичных метаболитов как таксономический маркер

Кроме знания внутривидовой изменчивости большое значение при объяснении закономерностей распространения вторичных метаболитов имеют данные об их качественном и количественном составе, знание путей биосинтеза этих соединений и биологической активности.

Во многих фитохимических работах приводятся данные о наличии и отсутствии какого-либо соединения в изученной выборке видов. Однако этого

зачастую недостаточно, так как таксономическим маркером может являться уровень накопления этого соединения.

Так, способность к синтезу никотина считалась присущей только видам рода *Nicotiana*, которые накапливают это соединение в значительных концентрациях. Применение высокочувствительных методов позволило обнаружить следовые количества никотина в филогенетически удаленных родах, таких как *Equisetum*, *Licopodium*, *Asclepias*, *Acacia* и *Mucuna*. Очевидно, что способность к биосинтезу этих соединений появилась независимо в нескольких группах растений, но это не уменьшает значение никотина как таксономического маркера рода *Nicotiana*, который по этому признаку четко отделяется от других родов семейства *Solanaceae*.

На основании данных о распространении небелковых аминокислот высказано предположение, что многие или даже все растения способны синтезировать эти соединения в предельно низких концентрациях, ниже порога чувствительности используемых методов.

Анализ экстрактов сахарной свеклы (*Beta vulgaris*), доступных в неограниченных количествах благодаря промышленной переработке для получения сахара, позволил показать, что генетическая способность накапливать определенные вторичные метаболиты (от следовых до необычно высоких концентраций) может быть гораздо более широко распространена, чем это предполагается на основании стандартных методов анализа. Предполагается, что среди филогенетически близких видов «отсутствие» или «наличие» данного соединения отражает уровень экспрессии определенных генов, ответственных за синтез ферментов, участвующих в биосинтезе этого соединения. Накопление вторичных метаболитов в следовых количествах было показано также на примере распространения цианогенных соединений, которые в концентрациях ниже 0,2 мг/кг сырой массы были обнаружены у многих «нецианогенных» видов и, возможно, все растения способны к накоплению этих соединений. Это точка зрения поддерживается и данными об участии цианогенных соединений в физиологических процессах регуляции окисления нитратов.

5 Химический скрининг позволяет не только наметить новые перспективные для изучения объекты, но и :

- выявить корреляции между систематическим положением растения, его химическим составом и медико-биологической активностью;
- выяснить географические и экологические факторы, способствующие или препятствующие накоплению в растениях тех или иных действующих веществ;
- определить значение биологически активных веществ для производящих их растений;
- выявить у растений химические расы, наследственно отличающиеся друг от друга наличием тех или иных действующих веществ.

6 унифицирование методик экстракции и анализа

Относительно методов анализа растительного материала следует отметить **важность унифицирования методик экстракции и анализа**, что необходимо для предупреждения искусственного привнесения разнообразия в наблюдаемую картину. Так, например, при исследовании клинальной изменчивости (*клинальная изменчивость* – непрерывное постепенное изменение признака на всем ареале вида или на части ареала вида, является результатом адаптации популяций к градациям каких-либо абиотических или биотических факторов среды) *Juniperus virginiana* было обнаружено значительное различие в количественном содержании терпеноидов между образцами, отобранными в течение первого и второго года исследования. Поскольку анализ терпеноидов выполнялся в одной и той же лаборатории на одном и том же хроматографе и при использовании одной колонки, исследователи первоначально пришли к выводу, что такое различие в содержании было обусловлено разницей в климатических условиях между двумя годами. Однако тщательное изучение всех возможных причин наблюдаемого явления показало, что различия были обусловлены небольшим изменением скорости движения газа через колонку на втором году исследования.

7 метод "ситы" используется при проведении массового полевого (рекогносцировочного) фитохимического анализа на основные биологически активные вещества всех без выбора (или с частичным выбором) видов растений определенной местности или района.

При этом предполагается, что среди таких последовательно перебранных, проанализированных, как бы "просеянных через аналитическое сито" растений найдутся перспективные объекты, содержащие алкалоиды, сердечные гликозиды, сапонины, эфирные масла и другие биологически активные вещества.

Метод "ситы" ранее был популярен при поиске лекарственных растений, для чего организовывались многочисленные экспедиции.

Для проведения полевых анализов были разработаны упрощенные методики количественного определения веществ.

Метод «ситы» одно время был очень популярен при поиске лекарственных растений. В поле выезжали многочисленные экспедиции. Для проведения полевых анализов были разработаны упрощенные методики количественного определения веществ по количеству «крестиков». Метод «ситы» на определенном этапе развития науки о лекарственных растениях сыграл свою позитивную роль. Однако этот метод трудоемок, дорог, по своей сути эмпиричен и обеспечивает лишь редкое "попадание" в цель.

В настоящее время экспедиции проводятся целеустремленно — по сбору определенных видов растений, предварительные сведения (в основном о применении в народной медицине) о которых можно считать обнадеживающими.

Помимо изучения опыта медицины многочисленных народностей бывшего СССР, фармакогносты проявляют большой интерес и к традиционной восточной медицине.

На территории бывшего СССР по исторически сложившимся обстоятельствам остались значительные следы прежних знаменитых восточных медицинских систем:

в Центральной Азии и отчасти в Закавказье — арабской медицины;

в Бурятии — тибетской; на Дальнем Востоке — китайской и т.д.

Исследования растений, используемых в тибетской и арабской медицине, проводили в Ленинградском химико-фармацевтическом институте А.Ф.Гаммерман и К.Ф.Блинова; в настоящее время такие исследования проводят их ученики. Составлены обширные словари, осуществляются глубокие химические и фармакологические исследования и внедрение в медицину наиболее ценных растений.

8 - Исследование органов растений

Разные органы растения нередко различаются не только количественным содержанием действующих веществ, но и их качественным составом.

Например, алкалоид синоменин содержится лишь в траве луносемянника даурского, а цитизин — лишь в плодах термопсиса ланцетовидного, отсутствуя в его наземных частях до окончания цветения растений, в то время как у термопсиса очередноцветкового цитизин в большом количестве содержится в надземных частях во все фазы развития растения.

Именно поэтому для получения полной картины химического состава каждого растения нужно сделать анализ не менее четырех его органов: подземных (корни, корневища, луковицы, клубни), листьев и стеблей (у трав листья всегда богаче действующими веществами, чем стебли), цветков (или соцветий), плодов и семян. У древесно-кустарниковых растений действующие вещества часто накапливаются в коре стеблей (и корней), а иногда лишь во всходах, некоторых частях цветка, плода и семени.

Химический состав каждого органа растения значительно колеблется также и в разные фазы его развития.

Максимум содержания одних веществ наблюдается в *фазу бутонизации*, других — в *фазу полного цветения*, третьих — во время *плодоношения* и др.

Например, алкалоид триакантин содержится в значительных количествах только в распускающихся листьях гледичии трехколючковой, в то время как в другие фазы развития во всех органах этого растения он практически отсутствует.

Таким образом, несложно подсчитать, что для выявления, например, только полного списка алкалоидоносных растений флоры СССР, насчитывающей около 20 000 видов, нужно сделать не менее 160 000 анализов (20 000 видов X 4 органа X 2 фазы развития), что потребует около 8000 дней работы 1 лаборанта-аналитика. Примерно столько же времени нужно затратить, чтобы определить наличие или отсутствие во всех растениях флоры СССР флавоноидов, кумаринов, сердечных гликозидов, таннидов, полисахаридов, тритерпеновых гликозидов и каждого другого класса химических соединений, если проводить анализы без предварительной выбраковки растений по тем или иным соображениям. Кроме того, одинаковые органы в той же фазе развития растения в одном районе могут иметь нужные действующие вещества, а в другом районе — не иметь их. Помимо географических и экологических факторов (влияние температуры, влажности, инсоляции и др.), здесь может сказаться наличие у данного растения особых химических рас, совершенно не различимых по морфологическим признакам.

Все это очень усложняет задачу и, казалось бы, делает перспективы окончания предварительной химической оценки флоры СССР, а тем более всего земного шара весьма отдаленными. Однако знание определенных закономерностей позволяет значительно упростить эту работу:

Во-первых, совершенно не обязательно исследовать все органы во все фазы развития. Достаточно анализировать каждый орган в оптимальную фазу, когда он содержит наибольшее количество исследуемого вещества. Например, предыдущими исследованиями установлено, что листья и стебли наиболее богаты алкалоидами в фазу бутонизации, кора — в период весеннего сокодвижения, а цветки — в фазу их полного распускания. Плоды и семена, правда, могут содержать разные алкалоиды и в разном количестве в зрелом и незрелом состоянии, и поэтому по возможности их надо исследовать дважды. Знание этих закономерностей значительно упрощает работы по предварительной химической оценке растений.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ