

# Étrendi hidroxi-fahéjsav-származékok jelentősége a májterápiában

Alberti Ágnes

Semmelweis Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognózia Intézet, Budapest

A májfibrosis gyógyszeres kezelése a rendelkezésre álló széles körű terápiás lehetőségek ellenére a mai napig nem megoldott. Irodalmi adatok alapján hidroxi-fahéjsav-származékokat tartalmazó növényi kivonatok *in vitro* és *in vivo* modellekben antifibroticus hatásúak. **Célkitűzés:** A szerző adatokat kívánt nyerni a májfibrosis adjuváns terápiájában és prevenciójában alkalmazható gyógy- és fűszernövények antifibroticus hatású hidroxi-fahéjsav-származékairól. **Módszer:** Fali kövirózsa présnedve, valamint hét közismert, a Lamiaceae családba tartozó fűszernövény hidroxi-fahéjsav-származék-tartalmát és összetételét vizsgálta spektrofotometriás és HPLC-módszerekkel. **Eredmények:** A Lamiaceae fűszernövények magas hidroxi-fahéjsav-származék-tartalommal rendelkeztek, vezető komponensként minden esetben rozmaringsavat tartalmaztak, míg a kövirózsa hidroxi-fahéjsav-származék-tartalma alacsonyabb volt. **Következtetések:** A kövirózsaprésnedv jelentős antioxidánsaktivitással rendelkező polifenol vegyületei miatt valószínűsíthető, hogy farmakológiai hatása a tartalmi anyagok együtthatásának köszönhető. A vizsgált fűszernövényekben az antifibroticus hatású hidroxi-fahéjsav-származékok koncentrációja jelentős, így az eredmények alátámasztják ezen növények májbetegség diétájában való alkalmazását. Orv. Hetil., 2012, 153, 948–953.

**Kulcsszavak:** májfibrosis, hidroxi-fahéjsav-származék, *Sempervivum tectorum* L., Lamiaceae

## Importance of dietary hydroxycinnamic acids in the therapy of liver fibrosis

Medicinal treatment of liver fibrosis is still unsolved. According to literature data, plant extracts containing hydroxycinnamic acids inhibit experimentally induced liver fibrosis. **Aim:** The aim of this study was to provide data on the hydroxycinnamic acid content of medicinal plants, which can be applied in the adjuvant therapy of liver fibrosis. **Methods:** Content and composition of hydroxycinnamic acids from houseleek and seven known herbs were evaluated using spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. **Results:** Hydroxycinnamic acid content was found to be high in Lamiaceae herbs, but it was lower in houseleek. Rosmarinic acid as the main compound was detected in all herb samples. **Conclusions:** Besides hydroxycinnamic acids, houseleek contains high amounts of antioxidant polyphenols, and its pharmacological effect is presumed to be attributed to synergism of all of these compounds. The hydroxycinnamic acid content of the herbs investigated was remarkable, therefore, the results support their dietary application in patients with chronic liver disease. Orv. Hetil., 2012, 153, 948–953.

**Keywords:** liver fibrosis, hydroxycinnamic acid, *Sempervivum tectorum* L., Lamiaceae

(Beérkezett: 2012. április 21.; elfogadva: 2012. május 17.)

A Prof. Fehér János Emlékére Alapítvány 2012. évi pályázatának díjnyertes közleménye.

### Rövidítések

$\alpha$ -SMA =  $\alpha$ -simaizom-aktin; ALP = alkalikus foszfatáz; ALT = alanin-aminotranszferáz; AST = aszpartát-aminotranszferáz; CTGF = kötőszövet-növekedési faktor; Cu/Zn SOD = réz/cink szuperoxid-dizmutáz; ECM-protein = extracelluláris má-

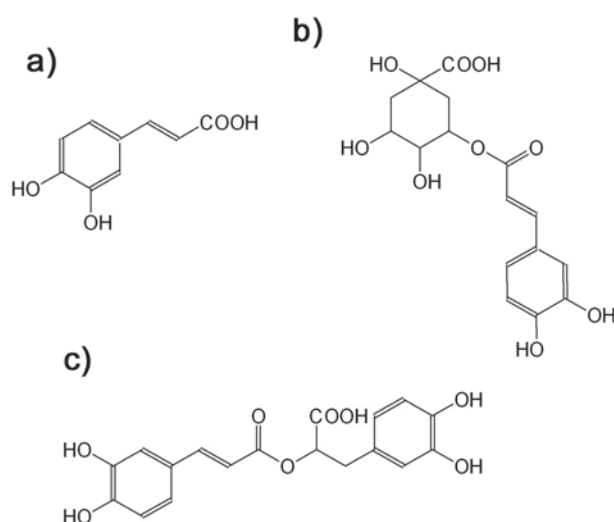
rix protein; HPLC = nagy hatékonyságú folyadékkromatográfia; LOD = kimutatás határa; LLOQ = mennyiségi meghatározás alsó határa; LOQ = mennyiségi meghatározás határa; TGF- $\beta$ 1 = transzformáló növekedési faktor  $\beta$ 1; VEGF = vascularis endothelialis növekedési faktor

A májfibrosis gyógyszeres kezelése a rendelkezésre álló széles körű terápiás lehetőségek ellenére nem megoldott, a leghatékonyabb terápiát máig a kiváltó ok kezelése jelenti. A májfibrosis és a következményeképp kialakuló májcirrhosis morbiditásának és mortalitásának csökkentéséhez szükség van hatásos és biztonságos antifibrotikumok klinikai gyakorlatba történő bevezetésére, emellett fokozott igény mutatkozik az adjuváns terápia iránt. Új terápiás eljárások a fibrogén sejtek akkumulációját, illetve az extracelluláris mátrix fehérjék lerakódását célozzák. Kísérletes modellekben számos vegyület képes a hegyszövet felhalmozódásának csökkentésére – a legígéretesebbek közé tartoznak a renin-angiotenzin rendszert gátló szerek és az antioxidáns hatású vegyületek –, azonban ezek hatásossága és biztonságossága humán vonatkozásban nem ismert [1, 2, 3, 4].

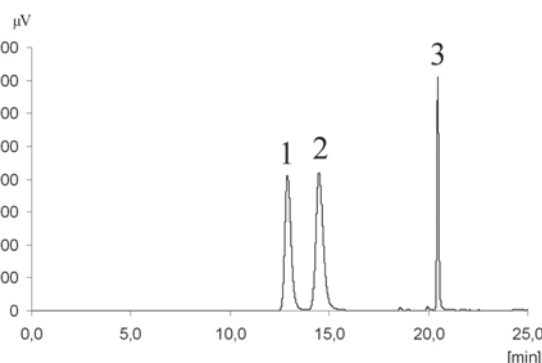
A természetes eredetű anyagok máig fontos szerepet játszanak a gyógyszerkutatóban. Számos növényi eredetű hatóanyagot tartalmazó készítmény van forgalomban [5, 6, 7]. Mindemellett a táplálékkal a szervezetbe juttatott növényi hatóanyagok szerepe sem elhanyagolható, az étrendi ajánlások követésének krónikus májbetegségek esetén különösen nagy jelentősége van. A közismerten májregeneráló hatású szilimarin mellett számos növényi kivonat rendelkezik hepatoprotektív hatással, ami felveti a májfibrosis adjuváns terápiájában, prevenciójában, illetve a májbetegdiéta részeként történő alkalmazásuk lehetőségét.

A *Sempervivum tectorum* L., fali kövirózsa présnedvét széleskörűen alkalmazzák a tradicionális gyógyászatban antiphlogisticus hatása miatt, amelyben antioxidánsaktivitással rendelkező polifenol tartalmú anyagai fontos szerepet játszanak. A kövirózsa liofilizált présnedve *in vitro* tesztekben dóziszfüggő  $H_2O_2$ / $\cdot OH$  scavenger aktivitással, fenton típusú  $\cdot OH$ -gyökök elleni szabadgyökfogó hatással [8], valamint szuperoxid ( $O_2^{\cdot -}$ ) scavenger hatással rendelkezett [9]. A liofilizált kövirózsa présnedv hyperlipidaemiás patkánymodellben gátolta mind az enzimatikusan, mind a nem enzimatikusan indukált lipidperoxidációt [10].

A kövirózsa présnedv állatkísérletekben hatásosnak bizonyult a hyperlipidaemia következtében kialakult szöveti és biokémiai elváltozások kivédésében. Blázovics és munkatársai kísérletes hyperlipidaemiás modellben vizsgálták a kövirózsa májenzimekre kifejtett hatását. Wistar patkányokat atherogen étrenden tartottak, míg az állatok egy másik csoportját az atherogen étrend mellett kövirózsa-kivonattal is kezelték. Az atherogen étrenden tartott állatoknál szignifikánsan nőtt az alkalis foszfatáz (ALP), a glutamát-piruvát-transzamináz (GPT) és a  $\gamma$ -glutamil-transzpeptidáz ( $\gamma$ -GT) szintje a kontrollcsoportéhoz képest. Az ALP- és a GPT-szintek emelkedését a kövirózsa-kivonattal történt kezelés szignifikáns mértékben csökkentette [11]. Egy másik állatkísérletben a liofilizált présnedv patkányokon csökkentette a trigliceridszintet és emelte a HDL-koleszterin-szintet. Javította a máj diffúz degeneratív hepatocellularis elvál-



1. ábra | Hidroxi-fahéjsav-származékok jellemző képviselői: a) kávésav, b) klorogénsav, c) rozmaringsav



2. ábra | A vizsgált hidroxi-fahéjsav-származékok HPLC-kromatogramja (320 nm), 1: kávésav, 2: klorogénsav, 3: rozmaringsav

tozásait, a vakuólizációt és a necrosist, amely majd minden sejten megfigyelhető volt. A lipogén étrenden tartott, majd kövirózsa présnedvvel kezelt állatok mája hasonló volt a kontrollcsoportéhoz. A szérumlipidszint csökkenése és a HDL-koleszterin-szint emelkedése szintén hozzájárulhatott a présnedv májvédő hatásához [12]. Mindezen hatásokat a kövirózsa présnedv hidroxi-fahéjsav-származék és flavonoid vegyületeivel hozzák összefüggésbe.

A hidroxi-fahéjsav-származékok a növényvilágban széles körben elterjedtek. Számos zöldségben, gyümölcsben és a belőlük készült italokban, mint például a bor, tea és kávé, egyaránt megtalálhatók. Jellemző képviselőjük a kávésav [1. a) ábra], a klorogénsav (kávésav kinasavval képzett észtere) [1. b) ábra], az egyik legnagyobb mennyiségben fogyasztott polifenol vegyület a humán étrendben, valamint a rozmaringsav (kávésav  $\alpha$ -hidroxidihidroxi kávéssavval képzett észtere) [1. c) ábra].

A hidroxi-fahéjsav-származékok jelentős antioxidánsaktivitással rendelkeznek, emellett számos *in vitro* és *in vivo* kísérletben igazolták antifibroticus hatásukat.

*Shi és munkatársai* a klorogénsav hatását vizsgálták szén-tetrakloriddal indukált májfibrosisban, állatkísérletes modellen [13]. A klorogénsav többféle mechanizmuson keresztül fejtette ki antifibroticus hatását. A hepaticus csillagsejtek aktivációja és proliferációja a fibrogenézis kulcsfontosságú lépése: az aktivált csillagsejtek fenotípusos átalakuláson mennek keresztül, amelynek során proliferációjuk és kontraktilitásuk fokozódik, valamint ECM-proteinek, például kollagén halmozódnak fel [3]. A vizsgálatban a klorogénsavval kezelt csoportban a csillagsejtek aktivációját jelző  $\alpha$ -SMA, valamint a kollagén mRNS-szintje csökkent a csak szén-tetrakloriddal kezelt csoporthoz képest. A szerzők feltételezték, hogy a csillagsejtek aktivációjának gátlása hozzájárul a kollagéntermelés csökkenéséhez a klorogénsavval kezelt csoportban. A TGF- $\beta$ 1 az egyik legjelentősebb ismert profibroticus faktor, amely aktiválja a csillagsejteket [1, 2, 3]. A vizsgálatban a TGF- $\beta$ 1 expressziója csökkent a klorogénsav-kezelés hatására. Az intracelluláris membránok felszínén megtalálható pro- és antiapoptotikus fehérjék vizsgálata igazolta, hogy a szén-tetrakloriddal kezelt csoporthoz képest a klorogénsavval is kezelt csoportban a proapoptotikus fehérjék (Bax) expressziója növekedett, míg az antiapoptotikus fehérjéké (bcl-2) csökkent, tehát az arány az apoptózis irányába mozdult el. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a klorogénsav szabályozhatja a bcl-2 családba tartozó pro- és antiapoptotikus fehérjék gén- és fehérjeexpresszióját, így antifibrotikus hatást fejthet ki.

*Li és munkatársai* rozmaringsav hatását vizsgálták kísérletes májfibrosisban *in vitro* hepaticus csillagsejteken és *in vivo* szén-tetraklorid indukálta fibrosisban patkányokon [14]. Az *in vitro* tesztben a rozmaringsav csökkentette a TGF- $\beta$ 1- és CTGF-expressziót az aktivált csillagsejteken, és ennek következtében gátolta a csillagsejtek proliferációját, mivel a kulcsfontosságú profibroticus faktor TGF- $\beta$ 1 mellett a májfibrosis patogenezisében a CTGF szintén kiemelkedő szerepet játszik [15]. A rozmaringsav *in vivo* csökkentette a fibrosis mértékét jelző biokémiai markerek szérumszintjét, javította a májfunkciót, a morfológiai elváltozásokat és a necrosist, csökkentette a fibroticus máj TGF- $\beta$ 1 és CTGF expresszióját.

További hidroxi-fahéjsav-származékok szintén májfibrosis-ellenes hatással rendelkeztek állatkísérletes modellekben: csökkentették a májkárosodás következtében emelkedett májenzim-koncentrációt, valamint gátolták a lipidperoxidációt. A kezelt csoportokban a hepaticus malondialdehid (MDA) és mieloperoxidáz (MPO) szintje szignifikánsan csökkent, míg a máj glutation- (GSH-) szintje szignifikánsan nőtt [16, 17, 18]. *Hou és munkatársai* által vizsgált hidroxi-fahéjsav-származék antifibroticus hatással rendelkezett kísérletes májfibrosisban [19]. Hatásában szerepet játszhat a CTGF expressziójának gátlása, a lipidperoxidációs termékek (malondialdehid) scavengelése, és az endogén antioxidáns- (szuperoxid-dizmutáz és glutation-peroxidáz) aktivitás növelése.

Számos hidroxi-fahéjsav-származékban gazdag növényi kivonat szintén antifibroticus hatással rendelkezik. A klorogénsavat tartalmazó gyermekláncfűgyökér vizes-etanolos kivonata szén-tetrakloriddal indukált májfibrosisban a máj károsodását jelző enzimek (AST, ALT, ALP) közül szignifikánsan csökkentette az alkalikus foszfatáz szintjét, és a kontrollcsoportéhoz hasonló szintre állította vissza a máj csökkent Cu/Zn SOD-aktivitását. A gyermekláncfűgyökér-kivonattal történt kezelés hatására csökkent a kollagénfelhalmozódás mértéke a necroticus területeken, a fibrosis teljesen visszafejlődött és a máj regeneratív képessége fokozódott. A Cu/Zn SOD-aktivitás emelkedése alapján feltételezhető, hogy a kivonat hepatoprotektív hatása részben antioxidánsaktivitásával lehet összefüggésben [20].

A *Salvia miltiorrhiza* (kínai zsálya) kivonata a TGF- $\beta$ 1 citokin transzkripciójának csökkentése mellett a máj kollagénszintjét szabályozó enzimek transzkripcióját is befolyásolta. A kollagén degradációját végző mátrix-metalloproteináz-13 (MMP-13) gén transzkripcióját növelte, míg az ezen kollagenázokat gátló metalloproteináz-1 szöveti inhibitor (TIMP-1) gén transzkripcióját csökkentette [21]. A szintén nagy mennyiségű hidroxi-fahéjsavat tartalmazó *Aquilegia vulgaris* (közönséges harangláb) -kivonattal történt kezelés patkányokban csökkentette a májfibrosisban fokozódott mikroszomális lipidperoxidációt, valamint szignifikánsan fokozta a hepaticus antioxidáns enzimek csökkent aktivitását [22].

Szakirodalmi források leírják, hogy a visszafogott kávéfogyasztás csökkentheti a májfibrosis előfordulását és súlyosságát. *Corrao és munkatársai* [23] arra a következtetésre jutottak, hogy ez a protektív hatás nem a koffeinhez köthető, hiszen egyéb, koffeint tartalmazó italok nem mutattak cirrhosisellenes hatást. Valószínűsíthető, hogy a kávé egyéb komponensei, például a nagy mennyiségben megtalálható polifenol, a klorogénsav is szerepet játszhatnak a májbetegségek megelőzésében és kezelésében [24]. Állatkísérletes májfibrosismodellben alkalmazott kávékészítmény-kezelés javította a májfibrosis súlyosságát, csökkentette a kollagénfelhalmozódást és a csillagsejtek aktivációját. A szerzők feltételezték, hogy a kávékészítmény többféle mechanizmus révén fejtette ki antifibroticus hatását. A TGF- $\beta$ 1 és a VEGF citokinek expressziójának csökkentése révén gátolja a hepaticus csillagsejtek aktivációját. Az apoptózis szignalizációs kaskád szabályozó bcl-2 proteincsalád gén- és fehérjeexpressziójának szabályozása szintén hozzájárulhatott a hatáshoz, valamint a kávé fenoloid vegyületeinek antioxidánsaktivitása révén az endoplazmás reticulum (ER) stressz és az oxidatív stressz gátlása szintén a készítmény egyik fő antifibroticus mechanizmusa lehet [25].

A *Cynara scolymus*, articsóka levelét a népgyógyaszatban koleretikus és májvédő hatása miatt alkalmazzák. A biológiai hatást cinarin-, illetve mono- és dikaffeoilkinasav-tartalmával hozzá kapcsolják. A vizsgálatok során a legmagasabb fenolsavszármazék-tartalmú kivonat fejtette ki a leghatékonyabb májvédő és antioxi-

dáns hatást [26]. *Rosmarinus tomentosus* (molyhos rozmaring) etanollal készült kivonata antifibroticus hatással rendelkezett tioacetamiddal indukált kísérletes májcirrhosisban patkányon. A kivonat májkárosodással szembeni hatásának pontos mechanizmusa nem ismert, de feltehetően közvetlenül szerepet játszanak benne a fenolsav komponensei, például rozmaringsav és kávéssav, valamint flavonoidjai. A hatás feltehetően komplex mechanizmusnak köszönhető [27].

Jelen munkával a szerző adatokat kívánt nyerni a májfibrosis adjuváns terápiájában és prevenciójában alkalmazható gyógy- és fűszernövények antifibroticus hatású hidroxifahéjsav-származék komponenseiről. Vizsgálta az antioxidánsaktivitással és májsejtvédő hatással rendelkező *Sempervivum tectorum* présnedv, valamint néhány, a Lamiaceae családba tartozó kedvelt fűszernövény összes hidroxifahéjsav-származék-tartalmát és összetételét, a leggyakoribb komponensek – kávéssav, klorogénsav és rozmaringsav (1. ábra) – mennyiségét.

## Módszer

### Vizsgált növényi minták

A *Sempervivum tectorum* L., fali kövirózsa levélmintáit a Budapesti Corvinus Egyetem soroksári kutatóközpontjában termesztett állományból gyűjtöttük. A növény farmakobotanikai azonosítása és a minta elhelyezése a Semmelweis Egyetem Farmakognózia Intézetében történt, a minta sorszáma: St.003. A *Sempervivum* levélmintából begyűjtés után azonnal kinyertük a présnedvet, amelyet liofilizálással szárítottunk.

A szárított *Majoranae herba* (majoránna virágos hajtás), *Melissae herba* (citromfű virágos hajtás), *Menthae piperitae herba* (borsmenta virágos hajtás), *Origani folium* (oregánólevél), *Rosmarini folium* (rozmaringlevél), *Salviae folium* (orvosiszálya-levél) és *Thymi herba* (kerti kakukkfű virágos hajtás) mintákat kereskedelmi forgalomból szereztük be.

### Kémiai reagensek

A kávéssav, klorogénsav és rozmaringsav referenciavegyületeket a Sigma-Aldrich Kft.-től vásároltuk. A kivonatok készítéséhez használt etanolt, a HPLC-vizsgálatok során alkalmazott hangyasavat és a kvantitatív fitoanalitikai vizsgálatokhoz használt sósavat a Reanal Kft.-től, a nátrium-nitrit és nátrium-molibdenát reagenst a Sigma-Aldrich Kft.-től vásároltuk. A HPLC-vizsgálatok során használt HPLC minőségű metanol a Sigma-Aldrich Kft.-től származott.

### Kvantitatív fitoanalitikai vizsgálatok

A minták összes hidroxifahéjsav-származék-tartalmát a Pharmacopoeia Hungarica VIII. *Rosmarini folium* cik-

kelye szerint [28], spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg.

### HPLC-vizsgálatok

ABL&E-Jasco rendszerrel dolgoztunk: Jasco LG-980-02 gradiensegység, Jasco PU-980 pumpa, ERC-3113 gázmentesítő, Jasco UV-975 UV-VIS detektor, Rheodyne 7725i (20 µl) injektor, Supelcosil LC18 (250×4,6 mm i.d., 5 µm) oszlop. A detektálás hullámhossza: 320 nm, az eluens áramlási sebessége: 1 ml/perc volt. Az analízist szobahőmérsékleten végeztük. Az injektált minta térfogata 20 µl volt.

Eluensek: A: 0,1% (v/v) hangyasav, B: metanol. Az alkalmazott gradiens a következő volt: kezdeti eluens-összetétel: 10% B, 14 perc: 15% B, 14,1 perc: 40% B, 20 perc: 60% B, 21 perc: 100% B, 24 perc: 100% B, 25 perc: 10% B. A komponenseket retenciós idejüknek és UV-spektrumuknak autentikus standard vegyületekkel történő összehasonlítás alapján azonosítottuk.

### Kvantitatív HPLC-módszer

0,22 g szárított kövirózsaprésnedvet 15 ml 80% (v/v) metanolban oldottunk, a mintát a metanol hatására kicsapódó poliszacharidoktól centrifugálással tisztítottuk (10 perc, 6000 fordulat/perc). A felülszót szilárd fázisú extrakcióval (Supelco Supelclean LC-18 SPE, 500 mg/3 ml; kondicionálás 3 ml metanol, ekvibrálás 3 ml víz, elúció 2×750 µl 75% [v/v] metanol, majd 6×750 µl metanol), valamint fecskendőszűrővel (Sartorius Minisart RC15 0,2 µm) tisztítottuk. A kivonat végső térfogata 1,00 ml volt.

A többi növény minta esetén a gyógyszerkönyvi meghatározás során készített kivonat 5,00 ml-es részletét rotációs vákuumbepárlón szárazra pároltuk, a maradékot 1 ml HPLC-minőségű 70% (v/v) metanolban oldottuk, az így kapott oldatot fecskendőszűrővel tisztítottuk.

A tartalmi meghatározás külső standard kalibrációs módszerrel történt. Kalibrációs pontok kávéssav és rozmaringsav esetén: 1, 5, 25, 50 és 150 µg/ml, klorogénsav esetén: 2, 10, 50, 100 és 300 µg/ml. Minden esetben három párhuzamos mérés történt.

## Eredmények

A Pharmacopoeia Hungarica VIII. módszere szerinti spektrofotometriás meghatározás eredményei alapján (1. táblázat) a Lamiaceae drogok mindegyike magas összes hidroxifahéjsav-származék-tartalommal rendelkezett, a citromfű és kakukkfű virágos hajtásé és a rozmaringlevélé kiemelkedő volt. A kövirózsaprésnedv hidroxifahéjsav-származék-tartalma elmaradt a többi mintához képest.

Az alkalmazott HPLC-módszer a kvantitatív meghatározáshoz megfelelő elválást biztosított mindhárom vizsgált komponensre. A kávéssavat 12,9 perc retenciós időnél, a klorogénsavat 14,48 percnél, a rozmaringsavat 20,47 perc retenciós időnél detektáltuk (2. ábra).



1. táblázat | A vizsgált növényi minták összes hidroxi-fahéjsav-származék-tartalma

Minta	Összes hidroxi-fahéjsav-származék $\pm$ SD (g/100 g) rozmaringsavban kifejezve
<i>Sempervivum tectorum</i> (kövirózsa-) présnedv	0,56 $\pm$ 0,03
<i>Majoranae herba</i> (majoránnahajtás)	16,20 $\pm$ 0,25
<i>Melissae herba</i> (citromfűhajtás)	31,78 $\pm$ 0,14
<i>Menthae piperitae folium</i> (borsmentalevél)	10,35 $\pm$ 0,42
<i>Origani herba</i> (oregánóhajtás)	6,15 $\pm$ 0,11
<i>Rosmarini folium</i> (rozmaringlevél)	19,36 $\pm$ 0,28
<i>Salviae folium</i> (zsályalevél)	12,62 $\pm$ 0,42
<i>Thymi herba</i> (kakukkfűhajtás)	26,43 $\pm$ 0,21

2. táblázat | Módszer-validálási eredmények: Kalibrációs adatok

Kalibrációs adatok	Kávészav	Klorogénsav	Rozmaringsav
Regressziós tartomány	1–150 $\mu$ g/ml	2–300 $\mu$ g/ml	1–150 $\mu$ g/ml
Retenció idő ismételtetősége	RSD%: 0,65 (n = 6)	RSD%: 1,16 (n = 6)	RSD%: 0,26 (n = 6)
LOD (S/N = 3)	~0,1 $\mu$ g/ml	~0,1 $\mu$ g/ml	~0,5 $\mu$ g/ml
LLOQ (S/N = 10)	~0,3 $\mu$ g/ml	~0,4 $\mu$ g/ml	~1,0 $\mu$ g/ml
LOQ	1,0 $\mu$ g/ml	2,0 $\mu$ g/ml	1,0 $\mu$ g/ml

3. táblázat | A vizsgált növényi minták kávéssav-, klorogénsav- és rozmaringsav-tartalma

Minta	Kávészav $\pm$ SD (mg/100 g)	Klorogénsav $\pm$ SD (mg/100 g)	Rozmaringsav $\pm$ SD (mg/100 g)
<i>Sempervivum tectorum</i> (kövirózsa-) présnedv	2,69 $\pm$ 0,06	3,54 $\pm$ 0,27	< LOD
<i>Majoranae herba</i> (majoránnahajtás)	31,21 $\pm$ 1,10	<LOD	1472,18 $\pm$ 51,95
<i>Melissae herba</i> (citromfűhajtás)	24,13 $\pm$ 1,46	45,87 $\pm$ 2,77	1790,67 $\pm$ 160,52
<i>Menthae piperitae folium</i> (borsmentalevél)	20,28 $\pm$ 0,65	9,00 $\pm$ 0,51	526,20 $\pm$ 30,71
<i>Origani herba</i> (oregánóhajtás)	4,78 $\pm$ 0,08	2,78 $\pm$ 0,25	343,91 $\pm$ 23,64
<i>Rosmarini folium</i> (rozmaringlevél)	25,87 $\pm$ 1,68	33,26 $\pm$ 0,23	1472,29 $\pm$ 160,52
<i>Salviae folium</i> (zsályalevél)	28,60 $\pm$ 1,19	<LOD	829,54 $\pm$ 65,04
<i>Thymi herba</i> (kakukkfűhajtás)	37,85 $\pm$ 0,51	17,49 $\pm$ 0,20	3074,49 $\pm$ 114,05

A regresszió az egyes komponensekre az alábbiak szerint alakult: kávéssav:  $y = -86,129x^2 + 77\,452x - 11\,313$ ;  $r^2 = 1,000$ ; klorogénsav:  $y = -17,743x^2 + 47\,370x - 1902,4$ ;  $r^2 = 1,000$ ; rozmaringsav:  $y = -46,198x^2 + 40146x - 4196,3$ ;  $r^2 = 1,000$ . A kalibrációs adatokra vonatkozó további módszer-validálási eredmények a 2. táblázatban láthatók. A módszer ismételtetősége mindhárom vizsgált hidroxi-fahéjsav-származék esetén mindhárom vizsgált koncentrációtartományban megfelelt az Amerikai Egyesült Államok Gyógyszerészeti és Élelmezésügyi Hivatala (FDA) biológiai mintákra vonatkozó irányelveinek [29].

A vizsgált növényi minták kávéssav-, klorogénsav- és rozmaringsav-tartalmát a 3. táblázat mutatja be. A kövirózsa-présnedv nem tartalmazott rozmaringsavat, azonban a vizsgált komponenseken kívül számos egyéb kávéssavszármazék is detektálható a kivonatban. A *Lamiaceae*-minták esetén a vizsgált vegyületek közül a roz-

maringsav volt a vezető komponens, valamint jellemző volt egyéb hidroxi-fahéjsav-származékok jelenléte is. A zsályalevél és a majoránna virágos hajtás klorogénsav-tartalma a kimutatási határ alatt volt. A legmagasabb kávéssav- és rozmaringsav-tartalommal a kakukkfű virágos hajtása rendelkezett. Spektrofotometriás vizsgálatainkkal összhangban szintén kiemelkedő volt a citromfű- és majoránnahajtás, valamint a rozmaringlevél kávéssav- és rozmaringsav-tartalma.

## Megbeszélés

Szakirodalmi adatok alapján a kísérletes májfibrosis *in vitro* és *in vivo* modelljeiben a hidroxi-fahéjsav-származékokat tartalmazó növényi kivonatok számos vizsgálatban hatásosnak bizonyultak [20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27]. Antifibroticus hatásukat a májfibrosis patomechanizmusában közreműködő citokinek gén- és fehérje-

expressziójának gátlásával, pro- és antiapoptotikus fehérjék szabályozásával, valamint antioxidánsaktivitásuk révén az ER-stressz gátlásán keresztül fejtették ki.

A falikővirózsa-présnedv jelentős antioxidánsaktivitással, lipidperoxidációt gátló és antihyperlipidaemiás hatással rendelkezett *in vitro* és *in vivo* tesztekben [8, 9, 10, 11, 12]. Vizsgálataink során hidroxifahéjsav-származék-tartalma elmaradt a vizsgálatba bevont Lamiaceae családba tartozó fűszernövényekétől. Mivel a gyógyászatban alkalmazott növények számos hatóanyagot tartalmaznak, amelyek önállóan, additívan és szinergizmusban egyaránt kifejtethet hatásukat, sok esetben nehézséget okoz annak meghatározása, hogy az igen összetett növényi terapeutikumok egyes komponensei milyen mértékben járulnak hozzá a farmakológiai hatáshoz [30]. A kövirózsaprésnedv nagy mennyiségben tartalmaz flavonoid és egyéb polifenol vegyületeket, amelyek magas antioxidánsaktivitással rendelkeznek, ezért feltételezhető, hogy a szakirodalomban leírt farmakológiai hatásai a tartalmi anyagok együtthatásának, szinergizmusának köszönhetők.

A vizsgált fűszernövények magas hidroxifahéjsav-származék-tartalommal rendelkeztek, így az eredmények alátámasztják a kedvelt fűszernövények májbetegség diétájában való alkalmazásának fontosságát, különösen a szakirodalmi források által ezen növényeknek és hatóanyagaiknak tulajdonított kedvező élettani hatások tekintetében. Felmerül továbbá annak lehetősége is, hogy a hidroxifahéjsav-származékokat, mint természetes eredetű hatóanyagokat a májfibrosis adjuváns terápiájában alkalmazva javítható a betegek állapota, megelőzhető állapotromlásuk.

## Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki dr. Blázovics Anna intézetigazgató asszonynak és dr. Kéry Ágnes PhD-témavezetőmnek a kézirat áttekintéséért és a segítő javaslatokért.

## Irodalom

- [1] Friedman, S. L.: Liver fibrosis – from bench to bedside. *J. Hepatol.*, 2003, 38, S38–S53.
- [2] Friedman, S. L.: Hepatic fibrosis – Overview. *Toxicology*, 2008, 254, 120–129.
- [3] Bataller, R., Brenner, D. A.: Liver fibrosis. *J. Clin. Invest.*, 2005, 115, 209–218.
- [4] Schuppan, D., Pinzani, M.: Anti-fibrotic therapy: Lost in translation? *J. Hepatol.*, 2012, 56, S66–S74.
- [5] Harvey, A. L.: Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today*, 2008, 13, 894–901.
- [6] Newman, D. J., Cragg, G. M., Snader, K. M.: Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *J. Nat. Prod.*, 2003, 66, 1022–1037.
- [7] Harvey, A. L.: Medicines from nature: are natural products still relevant to drug discovery? *Trends Pharmacol. Sci.*, 1999, 20, 196–198.
- [8] Kéry, Á., Blázovics, A., Rozlosnik, N., et al.: Antioxidative properties of extracts from *Sempervivum tectorum*. *Planta Med.*, 1992, 58, A661–A662.
- [9] Blázovics, A., Prónai, L., Fehér, J., et al.: A natural antioxidant extract from *Sempervivum tectorum*. *Phytother. Res.*, 1993, 7, 95–97.
- [10] Blázovics, A., Lugasi, A., Kemény, T., et al.: Membrane stabilizing effects of natural polyphenols and flavonoids from *Sempervivum tectorum* on hepatic microsomal mixed-function oxidase system in hyperlipidemic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 2000, 73, 479–485.
- [11] Blázovics, A., González-Cabello, R., Barta, I., et al.: Effect of liver-protecting *Sempervivum tectorum* extract on the immune reactivity of spleen cells in hyperlipidemic rats. *Phytother. Res.*, 1994, 8, 33–37.
- [12] Blázovics, A., Fehér, J., Fehér, E., et al.: Liver protecting and lipid lowering effects of *Sempervivum tectorum* extract in the rat. *Phytother. Res.*, 1993, 7, 98–100.
- [13] Shi, H., Dong, L., Bai, Y., et al.: Chlorogenic acid against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 2009, 623, 119–124.
- [14] Li, G. S., Jiang, W. L., Tian, J. W., et al.: *In vitro* and *in vivo* antifibrotic effects of rosmarinic acid on experimental liver fibrosis. *Phytomedicine*, 2010, 17, 282–288.
- [15] Abou-Shady, M., Friess, H., Zimmermann, A., et al.: Connective tissue growth factor in human liver cirrhosis. *Liver*, 2000, 20, 296–304.
- [16] Kus, I., Colakoglu, N., Pekmez, H., et al.: Protective effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Acta Histochem.*, 2004, 106, 289–297.
- [17] Coban, S., Yildiz, F., Terzi, A., et al.: The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against cholestatic liver injury in rats. *J. Surg. Res.*, 2010, 159, 674–679.
- [18] Chung, Y. C., Choi, J. H., Oh, K. N., et al.: Tungtungmadic acid isolated from *Salicornia herbacea* suppresses the progress of carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in mice. *Toxicol. Res.*, 2006, 22, 267–273.
- [19] Hou, J., Tian, J., Jiang, W., et al.: Therapeutic effects of SMND-309, a new metabolite of salvianolic acid B, on experimental liver fibrosis. *Eur. J. Pharmacol.*, 2011, 650, 390–395.
- [20] Domitrović, R., Jakovac, H., Romić, Ž., et al.: Antifibrotic activity of *Taraxacum officinale* root in carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 2010, 130, 569–577.
- [21] Wasser, S., Sian Ho, J. M., Ang, H. K., et al.: *Salvia miltiorrhiza* reduces experimentally-induced hepatic fibrosis in rats. *J. Hepatol.*, 1998, 29, 760–771.
- [22] Jodynys-Liebert, J., Adamska, T., Ewertowska, M., et al.: *Aquilegia vulgaris* extract attenuates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2009, 61, 443–451.
- [23] Corrao, G., Zambon, A., Bagnardi, V., et al.: Coffee, caffeine, and the risk of liver cirrhosis. *Ann. Epidemiol.*, 2011, 11, 458–465.
- [24] Muriel, P., Arauz, J.: Coffee and liver diseases. *Fitoterapia*, 2010, 81, 297–305.
- [25] Shi, H., Dong, L., Zhang, Y., et al.: Protective effect of a coffee preparation (Nescafé pure®) against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Clin. Nutr.*, 2010, 29, 399–405.
- [26] Speroni, E., Cervellati, R., Govoni, P., et al.: Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints. *J. Ethnopharmacol.*, 2003, 86, 203–211.
- [27] Galisteo, M., Suárez, A., Montilla, M. P., et al.: Protective effects of *Rosmarinus tomentosus* ethanol extract on thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats. *Phytomedicine*, 2006, 13, 101–108.
- [28] Pharmacopoeia Hungarica VIII., Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2006, 2, 2336. [Hungarian]
- [29] Guidance for industry, bioanalytical method validation; www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070107.pdf
- [30] Gurib-Fakim, A.: Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.*, 2006, 27, 1–93.

(Alberti Ágnes,

Budapest, Üllői út 26., 1085

e-mail: alberti.agnes@pharma.semmelweis-univ.hu)