Lipa – bogate źródło związków fenolowych o właściwościach prozdrowotnych

Agnieszka Viapiana, Marek Wesołowski

Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Adres do korespondencji: Agnieszka Viapiana, Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk, e-mail: agnieszka.viapiana@gumed.edu.pl

Polifenole (związki fenolowe) stanowią jedną z głównych grup antyoksydantów w diecie człowieka. Zapotrzebowanie organizmu człowieka na te związki może wynosić nawet ponad 1 g dziennie, co jest wartością o wiele wyższą niż zapotrzebowania organizmu na inne grupy związków chemicznych również odznaczających się aktywnością antyoksydacyjną [1]. Polifenole są naturalnymi przeciwutleniaczami szeroko rozpowszechnionymi w materiale roślinnym, szczególnie w warzywach, owocach, zbożach i jarzynach [2]. Związki fenolowe mogą być obecne w każdej części anatomicznej rośliny, tj. w łodygach, kwiatach, korzeniach, owocach, nasionach, liściach i kłęczach [3]. Poza właściwościami antyoksydacyjnymi, polifenole odznaczają się również innymi właściwościami biologicznymi, tj. wykazują aktywność antywirusową i antybakteryjną, przeciwcukrzycową i antymutagenną [4]. Do polifenoli powszechnie spotykanych w diecie człowieka należą kwasy fenolowe, np. kawowy, chłorogenowy, galusowy i rozmarynowy oraz flawonoidy, zarówno w formie wolnej, jak i związanej [5].

Klasyfikacja taksonomiczna rodzaju *Tilia*

Klasyfikacja taksonomiczna rodzaju *Tilia* L. [6]:

- Królestwo: Rośliny (Plantae)
- Podkrólestwo: Naczyniowe (Tracheophyta)
- Gromada: Okrytonasienne (Magnoliophyta)
- Podgromada: Magnoliophytina
- Klasa: Rosopsida
- Podklasa: Dilleniidae (Ukęślowe)
- Rząd: Ślázowce (Malvales)
- Rodzina: Lipowate (Tiliaceae)
- Rodzaj: Lipa (*Tilia* L.)

Rodzaj *Tilia* L. obejmuje od 35 do 50 gatunków roślin, spośród których do najbardziej znanych i odznaczających się korzystnymi właściwościami

Linden – a rich source of phenolic compounds for health

benefits · A short characteristic of botanical taxonomy of plants from the *Tiliaceae* family, main secondary metabolites occurring in these plants and fundamental areas of medical application of the linden herbal drugs has been given in this paper. Special attention has been paid to their anti-oxidative, anti-proliferative, anxiolytic, sedative and anti-inflammatory properties.

Keywords: linden, chemical composition, biological activity.

© Farm Pol, 2018, 74(7): 433–436

lecznymi należą – *Tilia cordata* (lipa drobnolistna) oraz *Tilia platyphyllos* (lipa szerokolistna) [7].

Klasyfikacja taksonomiczna rodzaju *Tilia* L. według APweb (aktualizowany system APG III z 2009):

- Królestwo: Rośliny (Plantae)
- Kład: Naczyniowe (Tracheophyta)
- Kład: Nasienne (Spermatophyta)
- Klasa: Okrytonasienne (Magnoliophyta)
- Kład: Różowe (Rosids)
- Rząd: Ślázowce (Malvanae)
- Rodzina: Lipowate (Tiliaceae)
- Rodzaj: Lipa (*Tilia* L.)

Charakterystyka botaniczna rodzaju *Tilia*

Gatunek *Tilia* jest charakterystyczny dla umiarkowanej strefy półkuli północnej i jest szeroko rozpowszechniony niemalże w całej Europie. Zasięg *Tilia platyphyllos* jest dosyć ograniczony w porównaniu do zasięgu *Tilia cordata*. Mimo to oba gatunki zajmują rozległe tereny Europy występując w różnych proporcjach [8]. Liście lipy (drzewa osiągnące do 40 m wysokości) są skrótoległe, proste o sercowatym kształcie i pierzastym użyłkowaniu.

Rycina 1. Wielkość liści lipy szerokolistnej (*Tilia platyphyllos*) i drobnolistnej (*Tilia cordata*) (fot. <https://europeantrees.files.wordpress.com/2011/01/lime-trees.jpg>)

Rycina 2. Kwiatostan lipy gatunku *Tilia cordata* (fot. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tilia_cordata_\(2560923908\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tilia_cordata_(2560923908).jpg))

Liście znajdujące się po oświetlonej przez słońce części drzewa są grubsze niż liście wzrastające w cieniu [8]. Porównując gatunki lipy, blaszki liściowe *Tilia cordata* są mniejsze od blaszek liściowych gatunku *Tilia platyphyllos* (**rycina 1**), dlatego też *Tilia cordata* nazywana jest lipą drobnolistną, natomiast *Tilia platyphyllos* lipą szerokolistną.

Kwiatostan lipy drobnolistnej składa się z 5 do 16 kwiatów, natomiast kwiatostan lipy szerokolistnej z 2 do 7 kwiatów. Charakteryzują się one pięcioma sztywnymi, owłosionymi działkami kielicha oraz pięcioma żółtymi, owłosionymi na brzegach płatkami korony. Średnica kwiatów wynosi od 5 do 18 mm. Zrośnięte pręciki w liczbie 30–40 stanowią pięć sztuk wiązek. Kwiaty natomiast odznaczają się

pięciokomorową zalążnią i szyjką słupka z pięciodelnym znamieniem. Szypuła kwiatostanu osiąga długość do 8 cm i jest częściowo zrośnięta z żółtawozieloną skórzastą podsadką [9]. Przykładowe kwiatostany różnych gatunków lipy przedstawiono na **rycinach 2–4**.

Skład chemiczny kwiatostanów lipy

Kwiatostany lipy zawdzięczają swoją aktywność farmakologiczną obecnym w nich flawonoidom, głównie kemferolowi i kwercetynie [10]. Są to związki pochodzenia roślinnego, o niskiej masie cząsteczkowej. Ponadto odznaczają się wysoką aktywnością biologiczną, wykazując działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i przeciwwirusowe [11].

Pomimo iż kwiatostany lipy drobnolistnej są powszechnie znane od lat, to literatura na temat ich składu chemicznego nie jest liczna. Jedynie kilka prac zawiera dane o identyfikacji i oznaczaniu ilościowym związków bioaktywnych, dzięki którym surowiec posiada właściwości lecznicze. Oniszczuk i Podgórski poddali analizie wodno-metanolowe i metanolowe ekstrakty lipy drobnolistnej [12]. Korzystając z wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją diodową (HPLC-DAD), oznaczyli siedem związków fenolowych: rutynę, izokwercetynę, kwercytrynę, astragalinę, tylirozyd oraz kwasy chlorogenowy i prokatechinowy. Tę samą technikę zastosowała Kosakowska i wsp., która analizowała metanolowe ekstrakty kwiatostanów lipy drobnolistnej [10]. Zidentyfikowała i oznaczyła trzynaście związków fenolowych, tj. izokwercetynę, rutozyd, hyperozyd, epikatechinę, kosmoczynę, tylirozyd, astragalinę, kemferol, kwercetynę, a ponadto kwasy – kawowy, *p*-kumarowy, chlorogenowy i wanilinowy. Nowoczesną techniką separacyjną, jaką jest wysokosprawna chromatografia cieczowa z tandemową spektrometrią mas i jonizacją z elektrorozpylaniem (HPLC-ESI-MS/MS) wykorzystał w badaniach Karioti i wsp. [13]. Poddając analizie odwary i napary z syryjskich i włoskich próbek lipy szerokolistnej, autorzy oznaczyli ponad dwadzieścia związków fenolowych, w tym najbardziej rozpowszechnione substancje bioaktywne, takie jak: kwas protokatechowy, kwas galusowy, epikatechinę, katechinę, izokwercetynę, glukozydy kemferolu i kwercetyny, tylirozyd oraz astragalinę. Również Akyuz i wsp. analizowali skład kwiatostanów lipy gatunku *Tilia rubra* subsp. *caucasica*, występujących na terenach Turcji, za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas i detekcją UV [14]. Analizując metanolowe ekstrakty kwiatostanów lipy, autorzy oznaczyli siedemnaście związków fenolowych, w tym kwasy: prokatechinowy, galusowy,

chlorogenowy, *p*-hydroksybenzoesowy, syryngowy, kawowy, ferulowy i *p*-kumarowy, a także katechinę, rutynę i kwercetynę.

Aktywność biologiczna gatunku *Tilia*

Kwiatostany lipy stosowano już w średniowieczu jako środek moczopędny i napotny [15]. Przy ich pomocy leczono niestrawność, ból głowy, wymioty, biegunkę, natomiast świeże kwiatostany dodawano do kąpieli w celu „stłumienia hysterii”. W medycynie ludowej lipę stosowano również w przypadku kołatania serca oraz wierzone, że kwiaty lipy są wysoce skuteczne w leczeniu padaczki. Według tych przesądów, przebywanie pod drzewem lipy miało zapewnić powrót do zdrowia [16].

Zgodnie z Farmakopeą Polską, kwiatostany lipy należące zarówno do gatunków *Tilia cordata*, jak i *Tilia platyphyllos* stanowią surowiec leczniczy [9]. Lipa jest powszechnie znana z właściwości przeciwgorączkowych, moczopędnych i napotnych. Te ostatnie właściwości są wynikiem obecności takich związków, jak kemferol, kwercetyna i kwas *p*-kumarowy [15].

W Europie kwiatostany lipy stosuje się w leczeniu w postaci płynnego ekstraktu etanolowego lub nalewki oraz rozdrobnionej substancji zielonej. Zarejestrowane są także mieszanki, które poza kwiatostanem lipy zawierają korę wierzby, liście podbiału i melisy oraz ziele tymianku. Zastosowanie lipy różni się w poszczególnych krajach. I tak, np. w Niemczech, Austrii i na Węgrzech preparaty lipy są stosowane w przeziębieniu, podczas gdy w Czechach i na Litwie leczy się nią katar oraz drażniący, suchy kaszel [17]. W Polsce stosuje się kwiatostany lipy jako łagodny środek napotny i przeciwgorączkowy oraz w reakcjach nadwrażliwości, np. w pokrzywce, podczas gdy w argentyńskiej medycynie ludowej stosuje się lipę w zapobieganiu i leczeniu różnych schorzeń, takich jak infekcje, stany zapalne i nowotwory [18]. Literatura naukowa dostarcza dowodów potwierdzających działanie antyoksydacyjne, antyproliferacyjne, uspokajające, przeciwłękowe i przeciwzapalne kwiatostanów lipy.

Właściwości antyoksydacyjne i antyproliferacyjne

Wykazano, że wodne, etanolowe i dichlorometanowe ekstrakty kwiatostanów lipy drobniolistej wykazują właściwości antyproliferacyjne zarówno w stosunku do nowotworu (BW 5147 lymphoma), jak i zdrowych limfocytów [19]. Na podstawie badań udowodniono selektywne działanie indukujące apoptozę w komórkach nowotworowych. Kumaryna, główny składnik dichlorometanowego ekstraktu, wykazuje działanie antyproliferacyjne na komórki BW 5147, co wskazuje na fakt, że może

Rycina 3. Kwiatostan lipy gatunku *Tilia americana* (fot. <https://gobotany.newenglandwild.org/species/tilia/americana/>)

Rycina 4. Kwiatostan lipy gatunku *Tilia platyphyllos* (fot. <https://gardencenterejea.com/arboles/1335-tilia-platyphyllos.html>)

być ona odpowiedzialna za tę aktywność ekstraktu. Z kolei właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów lipy wynikają z obecności flawonoidów, pełniących rolę neutralizatora reaktywnych form tlenu (ROS),

przede wszystkim anionu nadadtlenkowego (O_2^-) i nadttlenku wodoru (H_2O_2). ROS przyczyniają się do rozwoju chorób nowotworowych i zwyrodnieniowych. Argentyńscy naukowcy analizowali etanolowe ekstrakty lipy z gatunku *Tilia Virdis* pod kątem aktywności antyproliferacyjnej, zarówno w limfocytach nowotworowych, jak i w limfocytach prawidłowo stymulowanych mitogenem [20]. Uzyskane wyniki wskazały na wzrost inhibicji proliferacji komórek w zależności od wzrostu stężenia ekstraktów lipy. Ponadto analizowano aktywność antyoksydacyjną jednego z głównych składników lipy – rutyny. Związek ten nie tylko wykazał zdolność do neutralizacji wolnych rodników, ale także stymulował właściwości przeciwutleniające peroksydazy glutationowej poprzez wzrost jej aktywności.

Właściwości uspokajające i przeciwłękowe

Naukowcy z Uniwersytetu w Sao Paulo (Brazylia) zbadali wodno-etanolowe ekstrakty kwiatostanów lipy drobnolistnej za pomocą techniki HPLC–DAD–ESI–MS/MS. Właściwości przeciwłękowe przypisywane lipie wynikają z obecności pochodnych kemferolu i kwercetyny oraz tylozydu [21]. Ekstrakty lipy działają jako agonista receptora benzodiazepinowego, co wskazuje na zdolność flavonoidów do wiązania się z receptorem benzodiazepinowym [22]. Zespół naukowców z Meksyku, prowadząc badania na myszach, porównał aktywność wodnych ekstraktów kwiatostanów lipy z gatunku *Tilia americana* do aktywności diazepam [23]. Diazepam należy do leków z grupy benzodiazepiny, które wywołują efekt uspokajający i przeciwłękowy. Wyniki badań wskazały, iż ekstrakty lipy charakteryzują się podobnym efektem anksjolitycznym, jak diazepam [24].

Właściwości przeciwzapalne

Aktywność przeciwzapalna kwiatostanów lipy również wynika z obecności kemferolu i kwercetyny, na co wskazali naukowcy z Ankary (Turcja) [25]. Po wyizolowaniu z gatunku lipy *Tilia argentea* obu tych związków, a także przeprowadzeniu badań na myszach, potwierdzono silne działanie przeciwzapalne lipy, pozbawione objawów ubocznych w postaci uszkodzeń żołądka i ostrej toksyczności. Stan zapalny wywołany jest m.in. przez indukowaną syntazę tlenu azotu (iNOS) i cyklooksygenazę-2 (COX-2), które są odpowiedzialne za zwiększoną produkcję mediatorów prozapalnych [26]. Zarówno kemferol, jak i kwercetyna hamują indukowaną syntazę tlenu azotu (iNOS), białko C-reaktywne (CRP) i cyklooksygenazę-2 (COX-2), co tłumaczy ich silną aktywność przeciwzapalną [27].

Piśmiennictwo

- Scalbert A., Manach C., Morand C., Remesy C., Jimenez L.: Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci.* 2005, 45: 287–306.
- Xu B.J., Chang S.K.: A comparative study of phenolic profiles and antioxidant activities of Legumes as affected by extraction solvents. *J Food Sci.* 2007, 72: S159–S166.
- De Andrade E.F., de Souza Leone R., Ellendersen L.N., Masson M.L.: Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leale and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Ind Crops Prod.* 2014, 62: 499–506.
- Asgar A.M.: Anti-diabetic potential of phenolic compounds: a review. *Int J Food Prop.* 2013, 16: 91–103.
- García-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A.: Phenolic compound extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules* 2010, 15: 8813–8826.
- <https://plants.sc.egov.usda.gov/core/profile?symbol=TILIA> (data dostępu: czerwiec 2018).
- Środoń A.: Lipa w minionych krajobrazach Polski. w: Białobok S. (red.), *Lipy – Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop. Nasze drzewa leśne, Monografie popularnonaukowe, Poznań, Arkadia, 1991.
- Pigott D.: Lime-trees and Basswoods, A Biological Monograph of the Genus *Tilia*, Cambridge University Press, 2012.
- Farmakopea Polska VI, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa, 2002.
- Kosakowska O.K., Bączek K., Przybył J.L., Ejdy M., Kuzma P., Obiedzinski M., Węglarz Z.: Intraspecific variability in the content of phenolic compounds, essential oil and mucilage of small-leaved lime (*Tilia cordata* Mill.) from Poland. *Ind Crops Prod.* 2015, 78: 58–65.
- Middleton E. Jr., Kandaswami C., and Theoharides T.C.: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.* 2000, 52: 673–751.
- Oniszczuk A., Podgórski R.: Influence of different extraction methods on the quantification of selected flavonoids and phenolic acids from *Tilia cordata* inflorescence. *Ind Crops Prod.* 2015, 76: 509–514.
- Karioti A., Chiarabini L., Alachkar A., Fawaz Chehnb M., Vinciera F.F., Bilia A.R.: HPLC–DAD and HPLC–ESI–MS analyses of *Tiliae flos* and its preparations. *J Pharm Biomed Anal.* 2014, 100: 205–214.
- Akyuz E., Sahin H., Islamoglu F., Kolayli S., Sandra P.: Evaluation of phenolic compounds in *Tilia rubra* subsp. *caucasica* by HPLC–UV and HPLC–UV–MS/MS. *Int J Food Prop.* 2014, 17: 331–343.
- Blumenthal M., Busse W.R., Goldberg A.: The Complete German Commission E Monographs. Therapeutic Guide to Herbal Medicines, 1998.
- Barnes J., Anderson L.A., Phillipson J.D.: Herbal Medicines, 2nd ed. Pharmaceutical Press, London, 2007.
- Assessment report on *Tilia cordata* Miller, *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia vulgaris* Heyne or their mixtures, flos. EMA, European Medicines Agency, 2012. EMA/HMPC/337067/2011. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPA_assessment_report/2012/07/WC500129850.pdf (data dostępu: czerwiec 2018).
- Toursarkissian M.: Plantas Medicinales de la Argentina. Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires, 1980.
- Barreiro A.M.L., Cremaschi G., Werner S., Coussio J., Ferraro G., Anesini C.: *Tilia cordata* Mill. extracts and scopoletin (isolated compound): differential cell growth effects on lymphocytes. *Phyto Res.* 2006, 20: 34–40.
- Marrasini C., Anesini C., Ferraro G.: HPLC fingerprint of a flower extract of *Tilia viridis* and correlation with antiproliferative and antioxidant activity. *Phyto Res.* 2011, 25: 1466–1471.
- Negri G., Santi D., Tabach R.: Flavonol glycosides found in hydroethanolic extracts from *Tilia cordata*, a species utilized as anxiolytics. *RBPBM* 2013, 15: 217–224.
- Aguirre-Hernández E., Gonzalez-Trujano E., Martínez A.L., Moreno J., Kite G., Terrazas T., Soto-Hernandez M.: HPLC/MS analysis and anxiolytic-like effect of quercetin and kaempferol from *Tilia americana* var. *Mexicana*. *J Ethnopharmacol.* 2010, 127: 91–97.
- Shader R.I., Greenblatt D.J.: Use of benzodiazepines in anxiety disorders. *N Engl J Med.* 1993, 328: 1398–1405.
- Perez-Ortega G., Guevara-Fefer P., Chávez M., Herrera J., Martínez A., Martínez A.L., González-Trujano M.E.: Sedative and anxiolytic efficacy of *Tilia americana* var. *mexicana* inflorescences used traditionally by communities of State of Michoacan, Mexico. *J Ethnopharmacol.* 2008, 116: 461–468.
- Toker G., Kupeli E., Memisoglu M., Yesilada E.: Flavonoids with anti-noiceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). *J Ethnopharmacol.* 2004, 95: 393–397.
- Raso G.M., Meli R., Di Carlo G., Pacilio M., Di Carlo R.: Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage. *Life Sci.* 2001, 68: 921–931.
- García-Medavilla V., Crespo I., Collado P.S., Esteller A., Sanchez-Campos S., Tunon M.J., Gonzalez-Gallego J.: The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappa B pathway in Chang Liver cells. *Eur J Pharmacol.* 2006, 557: 221–229.

Otrzymano: 2018.06.17 · Zaakceptowano: 2018.07.13