Profil fitochemiczny i potencjał terapeutyczny szanty zwyczajnej (*Marrubium vulgare*) – przegląd aktualnego stanu wiedzy

Anna Magiera, Anna Marchelak, Aleksandra Owczarek, Monika A. Olszewska

Zakład Farmakognozji Katedry Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Adres do korespondencji: Anna Magiera, Zakład Farmakognozji, Katedra Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, e-mail: anna.magiera@stud.umed.lodz.pl

Phytochemical profile and therapeutic potential of white horehound (*Marrubium vulgare*) – a review of the current state of knowledge

White horehound (*Marrubium vulgare*) is a plant, whose therapeutic properties have been used for centuries in traditional medicine in many regions of the world. In Europe, horehound herb, that has its monographs i.a. in current editions of European (Ph. Eur. 9th) and Polish (FP XI) Pharmacopoeia, is used mainly in the treatment of respiratory system disorders, gastrointestinal complaints and liver diseases, as well as as antitussive, choleric and appetite stimulating agent. In the Northern Africa, in turn, the herb is used in cardiovascular disorders, as a remedy possessing cardiotonic and hypotensive properties. In recent years, numerous phytochemical and pharmacological studies have been carried out aiming to verify and establish the molecular mechanisms of *M. vulgare* activity. It has been confirmed that horehound herb exhibits multi-directional biological activity including hypotensive, cardioprotective, gastroprotective, analgesic and anti-inflammatory effects. The broad activity spectrum of the herb is a result of occurrence of specialized plant metabolites belonging to different chemical classes, among which labdan diterpenes including a bitter lactone – marrubine and its derivatives – marrubenol and marrubic acid, as well as phenylethanoids are to the largest extent responsible for the pharmacological properties of the plant material. This review presents the current state of knowledge on the herb of *M. vulgare*, its phytochemical profile verified pharmacological activity (with particular emphasis on *in vivo* studies), therapeutic potential and safety.

Keywords: *Marrubium vulgare*, labdan diterpenes, marrubine.

Wstęp

Szanta zwyczajna (*Marrubium vulgare* L.) to gatunek należący do rodziny jasnotowatych (*Lamiaceae*), pochodzący z obszaru śródziemnomorskiego i irano-turańskiego, występujący obecnie zarówno na stanowiskach naturalnych, jak i jako antropofit w wielu krajach Europy, Azji, Ameryki Południowej, Północnej i Środkowej oraz w Australii [1]. W Polsce szanta uznana jest za gatunek wymierający lub krytycznie narażony na wyginięcie (figuruje na Czerwonej liście roślin i grzybów Polski, kategoria E), jednakże sporadycznie nadal można ją spotkać jako roślinę dziko rosnącą na przydrożach, rumowiskach, pastwiskach, łąkach i polach [2]. Do celów farmaceutycznych ziele pozyskiwane jest głównie z uprawy. W różnych rejonach kraju szanta ma swoje lokalne nazwy, najbardziej popularne to: krzecina (lubelskie), krzeszyna (podlaskie) i gojnik (podkarpackie).

Od tysięcy lat szanta zwyczajna uważana była za lek łagodzący kaszel, pierwsze wzmianki o właściwościach przeciwkaszlowych ziela *M. vulgare* pojawiają się już w manuskryptach Dioskurydesa. Później zastosowanie *M. vulgare* w dolegliwościach układu oddechowego opisali także wybitni uczeni średniowiecza i renesansu, w tym św. Hildegarda z Bingen, Paracelsus i Pierandrea Matthioli [3]. W Europie surowiec ten od wieków powszechnie stosowano również w dolegliwościach żołądkowo-jelitowych, chorobach wątroby, utracie apetytu oraz jako środek żółciopędny i żółciotwórczy [3, 4]. Obecnie w Polsce ziele szanty zwyczajnej oraz złożone preparaty, zawierające ekstrakty z niego

pozyskane, używane są jako środki wzmacniające i pobudzające apetyt oraz w lekkich zaburzeniach trawienia i wydzielania żółci. Na europejskim rynku farmaceutycznym surowiec występuje w produktach leczniczych stosowanych głównie w nieżytach górnych dróg oddechowych oraz w uporczywym kaszlu. Z kolei w tradycyjnej medycynie afrykańskiej wykorzystywany jest jako środek hipotensyjny i kardiotoniczny [5, 6]. W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań fitochemicznych i farmakologicznych mających na celu weryfikację i ustalenie mechanizmów molekularnych aktywności ziela szanty. Wykazano, iż głównymi składnikami występującymi w ziele *M. vulgare* są diterpeny pochodne perhydronaftalenu (labdanu), fenyloetanoidey, kwasy fenolowe i flawonoidy. Liczne badania farmakologiczne potwierdziły pleiotropową aktywność ziela szanty, wskazując diterpeny, w szczególności marubinę, jako związki determinujące jego działanie biologiczne, w tym aktywność wazodilatacyjną, przeciwbólową oraz gastroprotekcijną [7–9]. Istotną z punktu widzenia aktywności farmakologicznej grupą związków występujących w ziele *M. vulgare* są także fenyloetanoidey, dla których potwierdzono m.in. aktywność wazoprotekcijną, wazodilatacyjną oraz przeciwzapalną [10]. Obecnie monografie ziela *M. vulgare* znajdują się m.in. w Farmakopei Europejskiej 9 (Ph. Eur. 9th), Farmakopei Polskiej XI (FP XI) oraz monografii Komisji E, która opierając się na latach doświadczeń medycyny europejskiej, podaje za uzasadnione stosowanie ziela szanty w dolegliwościach dyspeptycznych oraz schorzeniach górnych dróg oddechowych [3, 11, 12]. Inne kierunki zastosowań, w tym m.in. w obrębie układu krążenia, na które wskazuje duża część ostatnio przeprowadzonych badań, pozostają nadal domeną lecznictwa tradycyjnego. Główną przyczyną tego stanu rzeczy jest niewystarczająca liczba badań *in vivo* i klinicznych mogących określić efektywność terapeutyczną preparatów szanty.

Niniejszy przegląd ma na celu przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat ziela *M. vulgare*, jego profilu fitochemicznego, aktywności farmakologicznej (ze szczególnym uwzględnieniem badań *in vivo*), potencjału terapeutycznego, bezpieczeństwa stosowania oraz wskazanie najbardziej oczekiwanych kierunków dalszych poszukiwań.

Charakterystyka botaniczna gatunku

Marrubium vulgare to wieloletnia bylina, zaklasyfikowana do roślin naziemnopączkowych (hemikryptofitów), dorastająca do 80 cm wysokości. Roślina wykształca czterokanciastą łodygę o grubości do 7 mm, w górnej części bogato rozgałęzioną. Młode łodygi są gęsto pokryte białawym, kutnerowym owłosieniem, starsze zaś zielonawoszare, słabo

owłosione. Z prosto wzniesionej łodygi wyrastają naprzeciwlegle pojedyncze, krótkoogonkowe liście, osiągnące długość od 1,5 do 4 cm i szerokość od 1 do 3,5 cm. Blaszka liściowa jest pomarszczona, o brzegu nierówno karbowanym, pierzasto unerwiona, z obu stron pokryta cienkimi, białymi, welnistymi włoskami; na szczycie delikatnie zaostrowana, u nasady sercowata lub zwężająca się ku podstawie. Dolne liście są kształtu szeroko jajowatego do prawie okrągłych, górne zaś jajowate. Liście odznaczają się charakterystycznym gorzkim smakiem i zapachem piżma, który zanika podczas suszenia. Kwiaty występują w okresie od czerwca do sierpnia, są drobne, dwuwargowe, zrosłopłatkowe, koloru białego, osadzone w nibyokółki w kątach liści. Owocem szanty jest czterodzielna, odwrotnie jajowata rozłupnia, barwy szarobrunatnej, rozpadająca się na 4 podługowate rozłupki z nasionami. Nasiona dojrzewają w końcu lipca lub na początku sierpnia [4, 11].

Skład chemiczny

Profilowanie wyciągów z surowca metodą LC-MS, połączone z izolacją i identyfikacją związków chemicznych metodami spektralnymi, pozwoliło na dość szczegółowe poznanie ich składników. Jako główne związki czynne obecne w szancie wymieniane są diterpeny, fenyloetanoidey, kwasy fenolowe oraz flawonoidy.

Diterpeny

W świetle aktualnych badań fitochemicznych diterpeny, pochodne perhydronaftalenu (labdanu), uznawane są za główne składniki ziela szanty (**rycina 1**; I–XIX), warunkujące szereg kierunków jej aktywności biologicznej [13]. We frakcji diterpenoidowej dominuje gorzki lakton (+)-marubina (15,16-epoksy-6 β ,9-dihydroksy- γ -lakton kwasu 8 β H-labda-13(16),14-dien-19-owego; I) oraz jej prekursor (–)-premarubina (9,13:15,16-diepoksy-6 β -hydroksy- γ -lakton kwasu 8 β H-labd-14-en-19-owego; II), których zawartość w ziele szanty szacowana jest odpowiednio na 0,12–1% i 0,13% [3, 14–16]. Marubina stanowi także marker standaryzacyjny *M. vulgare*, którego zawartość w ziele wg FP XI i Ph. Eur. 9th nie powinna być niższa niż 0,7% [3, 11]. Ponadto wśród diterpenów szanty wykazano obecność 12-(S)-hydroksymarubiny (III) [17], 11-oksomarubiny (IV) [18], marubionu B (V), tesaliny D (VI), cyleniny A (VII), 15-epicyleniny A (VIII) [17], peregrininy (IX), 3-deoksy-15-(S)-metoksywelutiny (X), marulibacetalu A (XI) [7], deacetyloforskolinu (XII) [13], wulgarkozydu A (XIII) [18], preleosibiryny (XIV) [13], deacetylowitekstylaktonu (XV) [7] oraz kwasu marubinowego (XVI) [17]. Dodatkowo z surowca

wyzolowano także trzy alkohole diterpenowe pochodne labdanu, tj. marubenol (XVII), peregrinol (XVIII) i wurgarol A (XIX) [17].

Kwasy fenolowe i fenyloetanoidy

Obok diterpenów w ziele szanty występują kwasy fenolowe (**rycina 2**; XX-XXXVIII), w tym

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
XX	H	H	H	H
XXI	OH	H	H	H
XXII	H	H	OH	H
XXIII	H	H	OH	OH
XXIV	H	H	OH	OCH ₃
XXV	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

XXVI

XXVII

XXVIII

XXIX

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
XXX	H	H	OH	OH
XXXI	β -D-apioza	H	OH	OH
XXXII	β -D-ksyloza	H	OH	OH
XXXIII	β -D-apioza	α -L-arabinoza	OH	OH
XXXIV	H	H	OCH ₃	OH
XXXV	H	H	OCH ₃	OCH ₃
XXXVI	β -D-apioza	β -D-apioza	OH	OH
XXXVII	H	β -D-apioza	OH	OH
XXXVIII	β -D-apioza	H	OCH ₃	OH

β -D-apioza

β -D-ksyloza

α -L-arabinoza

Rycina 2. Kwasy fenolowe i fenyloetanoidy

kwasy cynamonowy (XX) oraz jego pochodne. Wymienia się obecność kwasu 2-hydroksycynamonowego (XXI), kwasu *p*-kumarowego (XXII), kwasu kawowego (XXIII), kwasu ferulowego (XXIV), kwasu synapinowego (XXV) oraz kwasu rozmarynowego (XXVI), będącego pochodną estrową kwasu kawowego [19]. Z omawianego gatunku wyizolowano również kwas chlorogenowy (XXVII), będący estrem kwasu chinowego i kwasu kawowego, kwas (+)-*E*-kawoilo-*L*-jabłkowy (XXVIII) [8] oraz kwas syringowy (XXIX) [20]. Ponadto obecne są także fenyloetanoidy

(estry kwasu kawowego i ferulowego z cukrami związanymi glikozydowo z 3,4-dihydroksyfenyloetanolą), w tym akteozyd (werbaskozyd) (XXX), forsytoid B (XXXI), arenariozyd (XXXII), ballotetrozyd (XXXIII) [8], leukoseptoid A (XXXIV) [13] martynoid (XXXV) [7], marubiozyd (XXXVI), samiozyd (XXXVII) [20] i alyssonoid (XXXVIII) [13]. W suchym ekstrakcie wodnym przygotowanym z ziela *M. vulgare* całkowita zawartość pochodnych kwasu cynamonowego określona metodą HPLC-DAD-ESI-MS sięga 14,09 mg/100 mg ekstraktu,

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
XXXIX	H	H	H	H	H	H
XL	H	OH	CH ₃	H	CH ₃	H
XLI	H	β -D-glukoza	H	β -D-glukoza	H	H
XLII	H	H	6''-O- <i>p</i> -kumaroilo- β -D-glukoza		H	H
XLIII	H	H	3'',6''-di-O- <i>E</i> - <i>p</i> -kumaroilo- β -D-glukoza		H	H
XLIV	OH	H	H	H	6''-O- <i>p</i> -kumaroilo- β -D-glukoza	
XLV	H	H	glukuronid	H	H	OCH ₃

	R ₁
XLVI	H
XLVII	β -D-glukoza
XLVIII	β -D-glukuronid

	R ₁
XLIX	β -D-glukoza
L	β -D-glukuronid

	R ₁
LI	β -D-glukoza

β -D-glukoza

α/β -D-glukuronid

grupa kumaroilowa

a związkami dominującym były pochodne akteozydu (11,54 mg/100 mg ekstraktu) [8].

Flawonoidy

W gatunku *M. vulgare* zaznaczyć należy także obecność flawonoidów (**rycina 3**; XXXIX-LI). W omawianej grupie związków dominują pochodne flawonu, występujące zarówno w postaci wolnej, jak i glikozydowej, w tym O- i C-glikozydy. Potwierdzono obecność apigeniny (XXXIX), ladaneiny (XL), wiceniny II (XLI) [8], ternifloryny (XLII), anizofoliny A (LXIII) [7], 4'-O-(6''-O-p-kumaroilo)-β-D-glukopiranozydu-3-hydroksyapigeniny (XLIV) [18], 7-O-glukuronopiranozydu chryzoeriolu (XLV), luteoliny (XLVI) [8], 7-O-β-glukopiranozydu luteoliny (XLVII) oraz 7-O-β-glukuronidu luteoliny (XLVIII) [21]. Ponadto w ziele szanty obecne są także glikozydowe pochodne flawonoli, w tym 3-O-β-D-glukopiranozyd kwercetyny (XLIX), 3-O-β-D-galaktopiranozyd kwercetyny (L) oraz 3-O-β-D-glukopiranozyd kemferolu (LI) [19]. Całkowita zawartość związków flawonoidowych w suchym ekstrakcie wodnym z ziele szanty oznaczona metodą HPLC-DAD-ESI-MS sięga 5.08 mg/100 mg ekstraktu [8].

Ksantony

Jedno z nowszych badań fitochemicznych sugeruje występowanie w ziele *M. vulgare* izoprenylo- wanych ksantonów, pochodnych ksanten-9-onu [13]. W surowcu przy pomocy metody LC-MS stwierdzono obecność dwóch izomerów garcinonu E (**rycina 4**; LII).

Olejek eteryczny

Ziele szanty zawiera ponadto do 0,09% olejku eterycznego [22–24]. Dominującymi związkami wchodzącymi w skład frakcji lotnej są seskwiterpeny, m. in. E-kariofilen, β-bisabolen, germarkren D, bicyklogermakren, E-β-farnezen, farnezol, δ-kadinen, α-cedren, E-nerolidol, α-humulen, α-kopaen, δ-amorfen. W olejku eterycznym szanty występują także związki monoterpenowe, w tym limonen, α-pinen, β-pinen, sabinen, γ-terpinen, karwakrol, β-elemen, β-cytronelol, 1,8-cyneol [22, 23].

Aktywność farmakologiczna

Wpływ na układ sercowo-naczyniowy

Aktywność kardioprotekcyjna

W badaniu przeprowadzonym na szczurach z ostrą niewydolnością serca (zawał mięśnia sercowego) indukowaną izoprotenerolem (100 mg/kg m.c. dwa razy dziennie przez 2 dni) wykazano, że metanolewe ekstrakty z nadziemnych części

Rycina 4. Ksantony

M. vulgare podawane parenteralnie w dawkach 10, 20, 40 mg/kg m.c. 0,5 h przed i 8 h po iniekcji izoprotenerolem hamowały śródmiąższowe włóknienie mięśnia sercowego. Mechanizm zapobiegania wystąpienia zawału serca prawdopodobnie wynika z aktywności przeciwzapalnej ekstraktów – u zwierząt doszło do obniżenia poziomu neutrofili, zmniejszenia aktywności mieloperoksydazy (MPO) oraz spadku poziomu kinazy kreatynowej (CK-MB) [25].

Aktywność wazodilatacyjna

W doświadczeniu *ex vivo* na modelu szczurzej aorty dowiedziono, że ekstrakty cykloheksanowe w stężeniach 16–64 µg/ml oraz marubina i marubenol wyizolowane z nadziemnych organów *M. vulgare* w sposób znaczący rozkurczają mięśnie gładkie naczyń krwionośnych [26]. Dalsze badania pozwoliły określić dokładniejszy mechanizm działania wazodilatacyjnego marubenolu, bezpośrednio wynikający z blokowania napięciowozależnych kanałów wapniowych typu L oraz ze zmniejszenia cytozolowego poziomu jonów wapnia (Ca²⁺) [27, 28]. Okazało się, że związek silniej hamował niezależny od śródbłónka skurcz szczurzej aorty wywołany wysokimi stężeniami pozakomórkowego KCl (skurcz zależny od dopływu jonów Ca²⁺) (IC₅₀ 11,8 µM, maksymalna relaksacja 93%), aniżeli niezależny od śródbłónka skurcz wywołany podaniem noradrenaliny (skurcz w mniejszym stopniu zależny od dopływu jonów Ca²⁺), dodatkowo związek był nieaktywny w obecności nimodypiny, będącej blockerem kanału wapniowego II generacji [27]. Podobny efekt zaobserwowano w badaniu *ex vivo* i *in vitro* dla wyciągu wodnego z ziele *M. vulgare*. Ekstrakt zmniejszał o 19% skurcz pierścieni naczyniowych aorty wywołany podaniem 100 mM KCl; w prawidłowej aorcie nie zauważono działania relaksacyjnego ww. ekstraktu [29]. Aktywność wazodilatacyjną potwierdzono

także dla glikozydów fenyloetanoidowych (akteozydu, forsytozydu B, arenariozydu i ballotetrozydu) izolowanych z *M. vulgare*. Wykazano, iż związki redukują uwalnianie endoteliny-1 (ET-1), będącej czynnikiem naczynioskurczowym. Wpływ pochodnych fenyloetanoidowych na wydzielanie endoteliny-1 wynikał z obniżenia poziomu utlenionej formy lipoprotein niskiej gęstości (LDL), należących do czynników stymulujących ten proces [30].

Aktywność hipotensyjna

W badaniach doświadczalnych przeprowadzonych na szczurach z nadciśnieniem spontanicznym (SHR) (210 mm Hg) stwierdzono, że wodne ekstrakty z nadziemnych organów *M. vulgare* podawane w dawce 80 mg/kg m.c./dobę przez 5 dni istotnie zmniejszają ciśnienie skurczowe zwierząt, co było zauważalne już od drugiego dnia jego stosowania. Efekt hipotensyjny osiągnął maksymalną wartość w 4 i 5 dniu leczenia i utrzymywał się na tym poziomie przez 2 dni od zakończenia podawania ekstraktu (brak danych o kolejnych dniach). Działania hipotensyjnego nie stwierdzono u zwierząt z normotensją (156 mm Hg) [29]. Późniejsze badania prowadzone na tym samym modelu zwierzęcym wykazały, że wyciąg (dawka 80 mg/kg m.c./dobę/14 tygodni) obniżył u badanych zwierząt ciśnienie skurczowe o 33 ± 1 mmHg, dla porównania po zastosowaniu amlodypiny, będącej antagonistą kanału wapniowego III generacji (dawka 10 mg/kg m.c./dobę/14 dni), ciśnienie skurczowe zostało zredukowane o 37 ± 2 mmHg. Dodatkowo zauważono, że ekstrakt charakteryzował się porównywalną do amlodypiny aktywnością przeciwhipertroficzną w stosunku do szczurzej aorty a także nasilał działanie relaksacyjne acetylocholiny w tętnicy krezkowej [31].

Aktywność hipoglikemiczna i hipolipemizująca

W doświadczeniu na szczurach z cukrzycą indukowaną alloxanem (cukrzyca alloxanowa) wykazano, że wodne ekstrakty z nadziemnych części *M. vulgare* podawane w dawkach 100, 200 i 300 mg/kg m.c./dobę przez 15 dni charakteryzowały się aktywnością hipoglikemiczną i hipolipemizującą. U zwierząt przyjmujących wyciągi w dawkach 200 oraz 300 mg/kg m.c./dobę doszło do znaczącego spadku poziomu glukozy (odpowiednio o 61,06 i 62,55%), triglicerydów (TG), całkowitego poziomu lipidów oraz całkowitego stężenia cholesterolu (TC) we krwi. Działanie ekstraktów okazało się być porównywalne do glibenklamidu podawanego przed 15 dni w dawce 5 mg/kg m.c./dobę [8]. Istotną poprawę

profilu lipidowego krwi (poziomy HDL, LDL, TG, TC) zauważono także u myszy (z hiperlipidemią indukowaną dootrzewnowym podaniem Tritonu WR-1339) dla ekstraktów octanu etylu, metanolu i chloroformu [32]. Natomiast badanie przeprowadzone u szczurów z cukrzycą indukowaną streptozotocyną (cukrzyca streptozotocynowa) wskazuje, iż działanie hipoglikemiczne i hipolipemizujące metanolowych ekstraktów z ziela szanty prawdopodobnie wynika z utrzymania aktywności enzymów antyoksydacyjnych, takich jak peroksydaza glutationowa (GPX), reduktaza glutationowa (GR) i transferaza glutationowa (GST), oraz z normalizacji poziomu glutationu (GSH). Aktywność hipoglikemiczna ww. ekstraktów może być także związana ze zdolnością do stymulacji uwalniania insuliny z komórek β wysepek Langerhansa [33]. W badaniu *in vitro* dowiedziono także, że wodne ekstrakty z ziela *M. vulgare* w stężeniach 50–100 $\mu\text{g/ml}$ hamują peroksydację lipidów, wywołaną jonami Cu^{2+} , w lipoproteinach niskiej gęstości (LDL) izolowanych z ludzkiego osocza. Dodatkowo zaobserwowano, że wyciągi poprawiają zależny od lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) transport wsteczny cholesterolu [34]. Inne badanie pokazuje, że również izolowane z nadziemnych części *M. vulgare* pochodne fenyloetanoidowe (akteozyd, forsytozyd B, arenariozyd i ballotetrozyd) oraz kwas (+)-*E*-kawoilo-*L*-jabłkowy, odznaczają się zdolnością do hamowania utleniania lipoprotein niskiej gęstości (LDL), indukowanego jonami Cu^{2+} lub 2,2'-azo-bis-(2-amidynopropanem) (AAPH) [35]. Ponadto wykazano, że metanolowe ekstrakty z ziela *M. vulgare* oraz wyizolowany z nich kwas 6-oktadecynowy cechują się zdolnością do wzmacniania sygnalizacji receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów (PPAR- γ) [36], biorących udział w regulacji procesów adipogenezy, metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz syntezie adipokin [37]. W badaniu *in vitro* dowiedziono również, że wodno-etanolowy wyciąg z ziela szanty charakteryzuje się hamującym wpływem na α -glukozydazę – enzym z grupy hydrolaz obecny na powierzchni enterocytów, katalizujący ostatni etap procesu trawienia cukrów. W następstwie tego dochodzi do redukcji uwalniania i wchłaniania wolnej glukozy z węglowodanów złożonych, a tym samym do spadku jej stężenia w osoczu [38].

Działanie hipolipemizujące i hipoglikemiczne wodnych ekstraktów z liści *M. vulgare* próbowano potwierdzić w randomizowanym badaniu na 21 pacjentach z cukrzycą insulinoniezależną (cukrzyca typu 2), wykazujących słabą odpowiedź na leczenie konwencjonalne. Pacjentom podawano napary wodne wykonane z 1 g wysuszonych

i sproszkowanych liści *M. vulgare* trzy razy dziennie przez 21 dni jako leczenie uzupełniające konwencjonalną terapię glibenklamidem. Po trzech tygodniach u osób objętych badaniem zaobserwowano łagodny spadek poziomu glukozy, cholesterolu całkowitego i trójglicerydów we krwi odpowiednio o 0,64, 4,16 i 5,78% w stosunku do poziomów wyjściowych, które zostały oznaczone biochemicznie przed rozpoczęciem doświadczenia. Należy jednak zaznaczyć, iż w badaniu nie występowała grupa kontrolna, stąd też nie można jednoznacznie stwierdzić, czy efekt hipolipemizujący i hipoglikemiczny był związany jedynie z podaniem pacjentom badanego wyciągu [39].

Aktywność przeciwbólowa

Na modelu mysim wykazano, że metanolowe ekstrakty z ziela *M. vulgare* podawane doustnie w dawce 200 mg/kg m.c. znacznie hamowały skurcz mięśni gładkich przewodu pokarmowego wywołany przez iniekcję *p*-benzochinonu (współczynnik hamowania wynosił 35,3%). Dla porównania współczynnik hamowania dla kwasu acetylosalicylowego (ASA) podanego doustnie w dawce 100 mg/kg m.c. był równy 54,3% [40]. W starszym badaniu na myszach potwierdzono również potencjał przeciwbólowy dla ekstraktów etanolowych z ziela *M. vulgare* podawanych dootrzewnowo i doustnie w stężeniach 10, 30, 60 mg/kg m.c. Ekstrakty istotnie hamowały w sposób zależny od dawki zarówno pierwszą, jak i drugą fazę bólu (ból neurogeny i zapalny). Dodatkowo ekstrakty podawane dootrzewnowo istotnie zmniejszały obrzęk łapy wywołany dootrzewnowym podaniem formaliny (współczynnik hamowania 62,9%) [41]. W badaniu przeprowadzonym na modelu mysim dowiedziono, że marubina wyizolowana z nadziemnych części *M. vulgare* zarówno po podaniu doustnym, jak i pozajelitowym, odznacza się wyraźnym działaniem przeciwbólowym, przewyższającym działanie kwasu acetylosalicylowego (ASA) i diklofenaku. W teście wicia wykazano, że związek podany pozajelitowo w stężeniu 90 µmol/kg m.c. praktycznie całkowicie znosi ból indukowany chemiczną lezją wywołaną iniekcją kwasu octowego. W teście określono dla marubiny wartość ID_{50} , która wynosiła 2,2 µmol/kg m.c., dla porównania wartości ID_{50} dla ASA i diklofenaku wynosiły odpowiednio 133 i 38 µmol/kg m.c. Działanie przeciwbólowe marubiny nie było znoszone przez antagonistę receptorów opioidowych – nalokson, co sugeruje, że związek może działać poprzez mechanizmy obwodowe. Z kolei w teście formalinowym stwierdzono, że marubina hamuje pierwszą i drugą fazę bólu, podczas gdy ASA był nieaktywny w pierwszej fazie testu formalinowego [42]. Analogiczne badania innych autorów

wykazały, że kwas marubinyowy izolowany z liści *M. vulgare* cechuje się podobnym, lecz słabszym profilem działania przeciwbólowego (wartość ID_{50} w teście wicia wynosiła 12 µmol/kg m.c.). Wyniki doświadczenia sugerują także, że kwas marubinyowy może wykazywać antagonizm w stosunku do receptora waniloidowego (TRPV1), uczestniczącego w nocyciepcji [43].

Aktywność przeciwzapalna

Aktywność przeciwzapalną potwierdzono dla ekstraktów metanolowych z nadziemnych części *M. vulgare* w badaniu na myszach ze stanem zapalnym spowodowanym podskórnym podaniem 1% roztworu karagenu (100 µl). W grupie zwierząt doświadczalnych przyjmujących iniekcje ww. ekstraktu w stężeniach 2,5, 5 i 10 mg/kg zaobserwowano zahamowanie tworzenia się obrzęku oraz ograniczenie migracji neutrofili do miejsca zapalnego [44]. W badaniu *in vitro* przeprowadzonym z wykorzystaniem owczej cyklooksygenazy konstytutywnej (COX-1) oraz owczej cyklooksygenazy indukowanej (COX-2) wykazano, że kwas (+)-*E*-kawoilo-*L*-jabłkowy, akteozyd, forsytozyd B, arenariozyd i ballotetrozyd wyizolowane z ziela *M. vulgare* charakteryzują się działaniem hamującym w odniesieniu do izoenzymu COX-2 syntazy cyklicznego nadtlenku prostaglandynowego, uczestniczącego w syntezie cytokin prozapalnych. Efekt inhibicji ww. związków w stężeniu 10^{-4} M w stosunku do COX-2 mieścił się w zakresie 0,3–32,8%, najwyższą aktywność hamującą zaobserwowano dla forsytozydu B (32,8%) oraz arenariozydu (26,4%), najniższą dla kwasu (+)-*E*-kawoilo-*L*-jabłkowego (0,3%) [10].

Aktywność hepatoprotekcyjna

Doświadczenie przeprowadzone na modelu szczurzym wykazało, że metanolowe ekstrakty z ziela *M. vulgare* podawane doustnie w dawkach 100 i 200 mg/kg m.c./dobę przez 7 dni zapobiegły pojawieniu się głównych cech uszkodzenia wątroby wywołanego przez doustne podawanie paracetamolu w dawce 2 g/kg m.c./dobę przez 7 dni. Stwierdzono, że po zastosowaniu ekstraktów doszło do poprawienia parametrów biochemicznych krwi (profil wątrobowy), stwierdzono spadek poziomu aminotransferazy alaninowej (ALT, ALAT, SGPT), aminotransferazy asparaginianowej (AspAT, AST, ASAT, SGOT) oraz fosfatazy zasadowej (AP, ALP), których wzrost aktywności obserwowany jest w niewydolności wątroby różnej etiologii. W wynikach analizy biochemicznej krwi zaobserwowano również obniżenie poziomu bilirubiny i trójglicerydów (TG). Z kolei badanie histopatologiczne izolowanej tkanki wątrobowej wykazało, że w grupie zwierząt przyjmujących doustnie

ekstrakty z ziela szanty doszło do częściowej regeneracji uszkodzonych hepatocytów [45]. Analogiczne wyniki uzyskano dla wyciągu metanolowego z ziela szanty (podawanego doustnie w stężeniu 500 mg/kg m.c.) w doświadczeniu na szczurach z uszkodzeniem wątroby indukowanym trichlorometanem (CCl₄). Zauważono ponadto, że ekstrakty metanolowe sprzyjają regeneracji wątroby poprzez stymulację syntezy białka i wpływ na wytwarzanie nowych hepatocytów, wykazując w ten sposób podobieństwo do sylimaryny [46, 47]. Aktywność hepatoprotekcyjną stwierdzono również dla wyciągów wodnych z liści *M. vulgare* podawanych doustnie (dawka 500 mg/kg m.c./dzień przez 30 dni) szczurom z leżą wątroby spowodowaną iniekcjami cyklofosfamidu (stężenie 150 mg/kg m.c./dzień przez 3 dni). W wynikach badania zauważono spadek poziomu laboratoryjnych markerów niewydolności wątroby takich jak dehydrogenaza mleczanowa (LDH), ALAT, ASAT i ALP. Stwierdzono ponadto, że ewentualny mechanizm działania hepatoprotekcyjnego ekstraktów może być następstwem utrzymania aktywności enzymów antyoksydacyjnych takich jak peroksydaza glutationowa (GPX), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) oraz katalaza (CAT) [48].

Aktywność cholinergiczna

W badaniu przeprowadzonym za pomocą zmodyfikowanej metody spektrofotometrycznej Ellmana, z wykorzystaniem acetylocholinoesterazy (AChE) oraz butyrylocholinoesterazy (BchE) pochodzenia zwierzęcego, dowiedziono, że acetonowe ekstrakty z nadziemnych organów *M. vulgare* w stężeniach 25–100 µg/ml charakteryzują się potencjałem hamującym w stosunku do ww. esteraz cholinowych. Ekstrakt w stężeniu 100 µg/ml hamował acetylocholinoesterazę w 76,3%, natomiast ekstrakt w stężeniu 50 µg/ml wykazał zdolność hamowania butyrylocholinoesterazy w 83,5% [49].

Aktywność gastroprotekcyjna

Metanolowy ekstrakt uzyskany z liści *M. vulgare* oraz wyizolowaną z nich marubinę testowano w kontekście działania przeciwwrzdowego na modelu owrzodzeń wywołanych etanolem i indometacyną u myszy. Stwierdzono, że doustna suplementacja ekstraktu w dawkach 50 oraz 100 mg/kg m.c./dobę oraz marubiny w dawce 25 mg/kg m.c./dobę znacząco obniżają wszystkie analizowane parametry (wskaźnik owrzodzenia, całkowitą powierzchnię owrzodzenia i procentową powierzchnię owrzodzenia). W przypadku owrzodzeń indukowanych etanolem wskaźniki lecznicze wynosiły odpowiednio 49,3, 74,3 i 44,4% kolejno dla wyciągu podawanego w stężeniu 50, 100 mg/

kg m.c./dobę i marubiny w dawce 25 mg/kg m.c./dobę, dla porównania jego wartość dla omeprazolu w dawce 30 mg/kg m.c./dobę wynosiła 79,9%. Natomiast w przypadku owrzodzeń indukowanych indometacyną wskaźniki lecznicze wynosiły 66,2, 82,2 i 86,9% odpowiednio dla wyciągu podawanego w stężeniu 50, 100 mg/kg m.c./dobę i marubiny w dawce 25 mg/kg m.c./dobę, dla porównania jego wartość dla cymetydyny w dawce 100 mg/kg m.c./dobę wynosiła 67,5%. Mechanizm aktywności gastroprotekcyjnej prawdopodobnie wynika ze zdolności do hamowania wydzielania kwasu żołądkowego oraz stymulowania syntezy śluzu, chroniącego komórki błony śluzowej żołądka przed destrukcyjnym działaniem enzymów trawiennych [50].

Aktywność spazmolityczna

W badaniu przeprowadzonym na modelu zwierzęcym stwierdzono, że wodno-etanolowe ekstrakty w stężeniach 100, 300, 1000 µg/ml hamują skurcze mięśni gładkich (jelita krętego, dwunastnicy, macicy, dna żołądka) indukowane acetylocholiną (ACh), bradykininą, histaminą, prostaglandyną E₂ (PGE₂) i oksytocyną (Oxt) [51].

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa

Aktywność przeciwbakteryjna

Metanolowe ekstrakty z nadziemnych części *M. vulgare* (w stężeniach 50, 100, 200, 400, 600 mg/ml) badano w kierunku potencjalnych właściwości przeciwbakteryjnych w stosunku do bakterii G⁻ (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) oraz G⁺ (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*). Zastosowana w badaniu metoda Kirby-Bauera pozwoliła określić średnicę strefy zahamowania wzrostu bakterii, a otrzymane wyniki porównano z średnicą strefy zahamowania wzrostu bakterii dla cyprofloksacyny (w stężeniu 10 µg/ml). Uzyskane wyniki wykazały, że ekstrakty w stężeniach 400 i 600 mg/ml charakteryzują się słabą aktywnością przeciwbakteryjną. Najbardziej podatne na działanie wyciągów okazały się być bakterie *B. subtilis* (średnica strefy zahamowania wzrostu wynosiła 17 i 24 mm odpowiednio dla wyciągu w stężeniu 400 i 600 mg/ml, dla porównania jej wartość dla cyprofloksacyny wynosiła 30 mm) i *S. epidermidis* (średnica strefy zahamowania wzrostu wynosiła 15 i 21 mm odpowiednio dla wyciągu w stężeniu 400 i 600 mg/ml, dla porównania jej wartość dla cyprofloksacyny wynosiła 25 mm). Spośród sześciu badanych szczepów bakteryjnych tylko jeden (*P. aeruginosa*) okazał się być oporny na działanie zastosowanych ekstraktów [52]. Udowodniono również

aktywność przeciwbakteryjną ekstraktu etanolowego oraz olejku eterycznego otrzymanych z liści *M. vulgare* w stosunku do *Staphylococcus aureus* (17 szczepów izolowanych z nosa i gardła 160 osób, w tym 80 osób zdrowych, 40 osób hospitalizowanych, 40 osób stanowiących personel medyczny); MIC, czyli minimalne stężenie hamujące wynosiło 2,5 g/ml dla ekstraktu i 0,3 mg/ml dla olejku eterycznego [53]. Dodatkowo dowiedziono, iż etanolowe ekstrakty z *M. vulgare* zapobiegają procesowi rozwoju i przylegania biofilmu *Staphylococcus aureus* [54]. Ponadto przy pomocy metody dyfuzyjno-krażkowej potwierdzono właściwości przeciwbakteryjne olejku eterycznego otrzymanego z nadziemnych organów *M. vulgare* w stosunku do wybranych szczepów bakterii G+ (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* 25923, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus subtilis* i *Bacillus cereus*). Jak pokazują wyniki przeprowadzonego badania najbardziej wrażliwe na działanie olejku eterycznego (w stężeniu 100 µg/krażek) były bakterie *S. epidermidis* (średnica strefy zahamowania wzrostu 25,2 mm; MIC 590 µg/ml) oraz *S. aureus* 25923 (średnica strefy zahamowania wzrostu 18,0 mm; MIC 1150 µg/ml) [55].

Aktywność przeciwwirusowa

W badaniu *in vitro* wykazano, że ekstrakty n-heksanowe z liści *M. vulgare* hamują replikację wirusa opryszczki typu 1 (HSV-1). Proponowany mechanizm działania wirusostatycznego związany jest ze zdolnością ww. ekstraktów do hamowania ekspresji trzech klas genów wirusa HSV-1: klasy IE (geny natychmiastowe wczesne), klasy E (geny wczesne) i klasy L (geny późne), których produkty białkowe tworzą strukturę wirionu [56].

Aktywność przeciwgrzybiczna

Według przeprowadzonych badań metanolowe ekstrakty z ziela *M. vulgare* w stężeniu 100–600 mg/ml charakteryzują się zdolnością do inhibicji wzrostu dermatofitu *Candida albicans* [40]. W kolejnym z badań przy pomocy metody dyfuzyjno-krażkowej stwierdzono, że frakcje flawonoidowe (różne kombinacje ekstrahentów) otrzymane z liści *M. vulgare* odznaczają się aktywnością przeciwgrzybiczną w stosunku do *Candida albicans* oraz *Aspergillus niger* (średnica strefy zahamowania wzrostu 8,2–37,5 mm, MIC 6,3–100 µg/ml). Aktywność grzybobójcza części wyciągów przewyższała aktywność powszechnie stosowanych syntetycznych leków przeciwgrzybiczych (amfoterycyny, flukonazolu, terbinafiny i azotanu eko-nazolu) [57]. Działanie przeciwgrzybicze w stosunku do *A. niger* potwierdzono również dla olejku

eterycznego pozyskanego z nadziemnych części *M. vulgare* [54].

Aktywność przeciwpasożytnicza

W badaniu *in vitro* zaobserwowano, że acetonowe i metanolowe wyciągi z ziela *M. vulgare* charakteryzują się silną aktywnością przeciwpasożytniczą w stosunku do pelzaka czerwonej *Entamoeba histolytica* (IC₅₀ ekstraktu acetonowego 7 µg/ml, IC₅₀ ekstraktu metanolowego 12 µg/ml) oraz umiarkowaną aktywnością przeciwpasożytniczą w stosunku do ogoniastka jelitowego *Giardia lamblia* (IC₅₀ ekstraktu acetonowego 90 µg/ml, IC₅₀ ekstraktu metanolowego 34 µg/ml) [58]. W innym badaniu stwierdzono, że metanolowe wyciągi z nadziemnych organów szanty zwyczajnej w stężeniu 150 µg/ml wykazują umiarkowaną aktywność przeciwpasożytniczą w stosunku do świrdrowca amerykańskiego *Trypanosoma cruzi* (IC₅₀ 23 µg/ml) [59].

Aktywność przeciwnowotworowa

W jednym z nowszych badań *in vitro* dowiedziono, że wyciąg metanolowy z nadziemnych organów *M. vulgare* zmniejsza żywotność komórek rakowych: U251 (ludzki glejak) i B16 (mysi czerniak). Szersza analiza wykazała, że wyciąg zatrzymywał cykl komórkowy w fazie S/G₂, co było związane z aktywacją kinazy p38 oraz nasileniem ekspresji genów białek antyproliferacyjnych p53, p21 i p27. Dowiedziono także, że ekstrakt wzmacniał ekspresję genów białek proapoptycznych Pten, Bak1, Apaf1 i Puma uczestniczących w hamowaniu transformacji nowotworowej, jednocześnie tłumili ekspresję genów białek antyapoptycznych survivin i Xiap. Ponadto wykazano, że apoptoza badanych linii komórek nowotworowych promowana była przez aktywację kaspazy-3 i kaspazy-9 [60]. W innym eksperymencie *in vitro* stwierdzono, że metanolowe ekstrakty z liści *M. vulgare* w stężeniach 100 i 250 µg/ml hamują proliferację oraz indukują śmierć komórek ludzkiego raka jelita grubego HCT-116. Przy pomocy metody Western blot wykazano także, iż wyciąg w stężeniu 100 µg/ml nasilał ekspresję genów proapoptycznego białka NAG-1 [61]. Aktywność przeciwnowotworową stwierdzono również dla olejku eterycznego otrzymanego z nadziemnych części *M. vulgare*. W stężeniu powyżej 500 µg/ml ww. olejek w 100% hamował proliferację linii komórek nowotworowych HeLa (ludzki rak szyjki macicy) [55].

Toksyczność

Wieloletnie doświadczenia medycyny tradycyjnej sugerują, że stosowanie ziela szanty w ustalonych przez EMA wskazaniach i schematach

dawkowania jest stosunkowo bezpieczne [3]. Z drugiej strony wyraźnie brakuje szerszych badań *in vivo* weryfikujących różne aspekty ewentualnej toksyczności *M. vulgare*, szczególnie w kontekście możliwych rozszerzonych kierunków zastosowań ziela, a wyniki dotychczasowych badań są rozbieżne. Przykładowo, na modelu szczurzym przebadano wyciągi metanolowe z liści *M. vulgare* pod kątem toksyczności ostrej. W doświadczeniu nie stwierdzono wystąpienia jakichkolwiek efektów niepożądanych po jednorazowym, dostnym podaniu ekstraktu w dawce 2 g/kg m.c. [50]. Najnowsze badania przeprowadzone na ciężarnych samicach szczurów sugerują natomiast, że etanolowe ekstrakty z liści *M. vulgare* podawane w dawce 1 g/kg m.c. przez 19 dni wykazują działanie poronne. W grupie przyjmującej ww. ekstrakty stwierdzono pogorszenie parametrów hematologicznych krwi, u zwierząt doszło do spadku poziomu erytrocytów (RBC), hemoglobiny (HGB), hematokrytu (HCT) oraz średniej objętości krwinki czerwonej (MCV). U samic stwierdzono także spadek średniej implantacji płodu; natomiast zmiany makroskopowe i histopatologiczne w macicy i u płodów były nieznaczne [62]. Wydaje się zatem uzasadnione przeprowadzenie dalszych badań celem dokładnego określenia bezpieczeństwa podczas długotrwałego stosowania ekstraktów z ziela *M. vulgare*.

Interakcje

Według informacji zgromadzonych w centralnej bazie danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) *M. vulgare* nie wpływa na wątrobowe enzymy metabolizujące leki i glikoproteinę P (P-gp, Pgp) [3].

Podsumowanie

Szanta zwyczajna to dobrze znana i ceniona w medycynie tradycyjnej roślina o interesującym profilu fitochemicznym i dużym potencjale leczniczym. Liczne badania farmakologiczne potwierdziły szerokie spektrum aktywności biologicznej ziela szanty, m.in. działanie: hipotensyjne, kardioprotekcyjne, hepatoprotekcyjne, przeciwbólowe, przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe i przeciwnowotworowe. Wyniki doświadczeń *in vitro* i *in vivo* sugerują jednak konieczność dalszych analiz, zarówno z wykorzystaniem eksperymentalnych modeli zwierzęcych, jak i przede wszystkim badań klinicznych, celem dokładniejszego określenia molekularnych mechanizmów aktywności, efektywności klinicznej, toksyczności i bezpieczeństwa stosowania preparatów szanty. Szczególna potrzeba

rozszerzonych badań dotyczy możliwości zastosowania ziela *M. vulgare* we wspomagającej terapii chorób układu sercowo-naczyniowego, na którą wskazują zarówno doświadczenia medycyny tradycyjnej, jak i dotychczas przeprowadzone badania podstawowe. Zwraca uwagę także fragmentarycznie rozpoznane zagrożenie wpływu poszczególnych składników ziela szanty (poza marubinę) na konkretne kierunki aktywności. Istotny problem stanowi także brak badań klinicznych weryfikujących skuteczność ziela szanty w ugruntowanym w tradycji europejskiej zastosowaniu w terapii schorzeń górnych dróg oddechowych.

Otrzymano: 2018.03.26 · Zaakceptowano: 2018.04.15

Piśmiennictwo

1. U.S. National Plant Germplasm System: (<https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=23450>) (07.02.2018).
2. Zarzycki K., Szelaż Z.: Red of the vascular plants in Poland. Czerwona lista roślin naczyniowych w Polsce. W: Red list of plants and fungi in Poland. Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Kraków: PAN, 2006: 9–20.
3. European Medicines Agency (EMA), Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), 2013. Assessment report on Marrubium vulgare L., herba.
4. Ożarowski A., Jaroniewski W.: Rośliny lecznicze i ich praktyczne wykorzystanie. Wyd. 2, Warszawa: Instytut Wydawniczy Związków Zawodowych 1989: 365–366.
5. Kadri A., Zarai Z., Békir A., Gharsallah N., Damak M., Gdoura R.: Chemical composition and antioxidant activity of Marrubium vulgare L. essential oil from Tunisia, African Journal of Biotechnology 2011, 10: 3908–3914.
6. Teixidor-Toneu I., Martín G.J., Ouhammou A., Puri R.K., Hawkins J.A.: An ethnomedicinal survey of a Tashelhit-speaking community in the High Atlas, Morocco, J Ethnopharmacol 2016, 188: 96–110.
7. Masoodi M., Ali Z., Liang S., Yin H., Wang W., Khan I.A.: Labdane diterpenoids from Marrubium vulgare, Phytochem Lett 2015, 13: 275–279.
8. Boudjelal A., Henchiri C., Siracusa L., Sari M., Ruberto G.: Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian Marrubium vulgare L. infusion, Fitoterapia 2012, 83: 286–292.
9. Rodríguez Villanueva J., Martín Esteban J.: An Insight into a Blockbuster Phytomedicine; Marrubium vulgare L. Herb. More of a Myth than a Reality?, Phytother Res 2016, 30: 1551–1558.
10. Sahpaz S., Garbacki N., Tits M., Bailleul F.: Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from Marrubium vulgare, J Ethnopharmacol 2002, 79: 389–392.
11. Farmakopea Polska XI. PZWL, Warszawa 2017.
12. Blumenthal M., Busse W.R. The Complete German Commission E monographs. Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Texas: The American Botanical Council 1998.
13. Amessis-Ouchemoukh N., Abu-Reidah I.M., Quirantes-Piné R., Madania K., Segura-Carretero A.: Phytochemical profiling, in vitro evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of Marrubium vulgare (horehound) leaves of plants growing in Algeria, Ind Crop Prod 2014, 61: 120–129.
14. Popoola O.K., Elbagory A.M., Ameer F., Hussein A.A.: Marrubiin, Molecules 2013, 18: 9049–9060.
15. Rigano D., Grassia A., Borrelli F., Aviello G., Piozzi F., Bruno M., Arnold N.A., Capasso R., Senatore F.: Phytochemical and pharmacological studies on the acetonic extract of Marrubium globosum ssp. Libanoticum, Planta Med 2006, 72: 575–578.
16. Rodrigues C.A., Savi A.O.S., Schlemper V., Reynaud E., Cechinel-Filho V.: An Improved Extraction of Marrubiin from Marrubium vulgare, Chromatographia 1998, 47: 449–450.
17. Piozzi F., Bruno M., Rosselli S., Maggio A.: The diterpenoids of the genus Marrubium (Lamiaceae), Nat Prod Commun 2006, 1: 585–592.

18. Shaheen F., Rasoola S., Shah Z.A., Soomro S., Jabeen A., Msaik M.A., Choudhary M.I.: Chemical constituents of *Marrubium vulgare* as potential inhibitors of nitric oxide and respiratory burst, *Nat Prod Commun* 2014, 9: 903–906.
19. Boulila A., Sanaa A., Salem I.B., Rokbeni N., M'rabet Y., Hosni K., Fernandez X.: Antioxidant properties and phenolic variation in wild populations of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae), *Ind Crop Prod* 2015, 76: 616–622.
20. Amri B., Martino E., Vitulo F., Corana F., Kaab L.B., Rui M., Rossi D., Mori M., Rossi S., Collina S.: *Marrubium vulgare* L. Leave Extract: Phytochemical Composition, Antioxidant and Wound Healing Properties, *Molecules* 2017, 22: 1851.
21. Pukalskas A., Venskutonis P.R., Salido S., de Waard P., van Beek T.A.: Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania, *Food Chem* 2012, 130: 695–701.
22. Zawislak G.: Comparison of chemical composition of the essential oil from *Marrubium vulgare* L. and *M. incanum* Desr. during the second year of cultivation, *Acta Agrobot* 2015, 68: 59–62.
23. Khanavi M., Ghasemian L., Motlagh E.H., Hadjiakhoondi A., Shafiee A.: Chemical composition of the essential oils of *Marrubium parviflorum* Fisch. & C. A. Mey. and *Marrubium vulgare* L. from Iran, *Flavour Fragr J* 2005, 20: 324–326.
24. Weel K.G.C., Venskutonis P.R., Pukalskas A., Gruzdiene D., Linssen J.P.H.: Antioxidant activity of horehound (*Marrubium vulgare* L.) grown in Lithuania, *Eur J Lipid Sci Tech* 1999, 101: 395–400.
25. Yousefi K., Fathiazad F., Soraya H., Rameshrad M., Maleki-Dizaji N., Garjani A.: *Marrubium vulgare* L. methanolic extract inhibits inflammatory response and prevents cardiomyocyte fibrosis in isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats, *Bioimpacts* 2014, 4: 21–27.
26. El Bardai S., Morel N., Wibo M., Fabre N., Llabres G., Lyoussi B., Quetin-Leclercq J.: The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from *Marrubium vulgare*, *Planta Med* 2003a, 69: 75–77.
27. El Bardai S., Wibo M., Hamaide M.C., Lyoussi B., Quetin-Leclercq J., Morel N.: Characterisation of marrubenol, a diterpene extracted from *Marrubium vulgare*, as an L-type calcium channel blocker, *Br J Pharmacol* 2003b, 140: 1211–1216.
28. El Bardai S., Hamaide M.C., Lyoussi B., Quetin-Leclercq J., Morel N., Wibo M.: Marrubenol interacts with the phenylalkylamine binding site of the L-type calcium channel, *Eur J Pharmacol* 2004a, 492: 269–272.
29. El Bardai S., Lyoussi B., Wibo M., Morel N.: Pharmacological evidence of hypotensive activity of *Marrubium vulgare* and *Foeniculum vulgare* in spontaneously hypertensive rat, *Clin Exp Hypertens* 2001, 23: 329–343.
30. Martin-Nizard F., Sahpaz S., Kandoussi A., Carpentier M., Fruchart J.C., Duriez P., Bailleul F.: Natural phenylpropanoids inhibit lipoprotein-induced endothelin-1 secretion by endothelial cells, *J Pharm Pharmacol* 2004, 56: 1607–1611.
31. El Bardai S., Lyoussi B., Wibo M., Morel N.: Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat, *Clin Exp Hypertens* 2004b, 26: 465–474.
32. Ibrahim A.Y., Hendawy S.F., Elsayed A.A., Omer E.A.: Evaluation of hypolipidemic *Marrubium vulgare* effect in Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in mice, *Asian Pac J Trop Med* 2016, 9: 453–459.
33. Elberry A.A., Harraz F.M., Ghareib S.A., Gabr S.A., Nagy A.A., Abdel-Sattar E.: Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats, *Int J Diabetes Mellit* 2015, 3: 37–44.
34. Berrougui H., Isabelle M., Cherki M., Khalil A.: *Marrubium vulgare* extract inhibits human-LDL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol efflux in THP-1 macrophage, *Life Sci* 2006, 80: 105–112.
35. Martin-Nizard F., Sahpaz S., Furman C., Fruchart J.C., Duriez P., Bailleul F.: Natural phenylpropanoids protect endothelial cells against oxidized LDL-induced cytotoxicity, *Planta Med* 2003, 69: 207–211.
36. Ohtera A., Miyamae Y., Nakai N., Kawachi A., Kawada K., Han J., Iso-da H., Neffati M., Akita T., Maejima K., Masuda S., Kambe T., Mori N., Irie K., Nagao M.: Identification of 6-octadecynoic acid from a methanol extract of *Marrubium vulgare* L. as a peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist, *Biochem Biophys Res Commun* 2013, 400: 204–209.
37. Chmielewska-Kassassir M., Woźniak L.A., Ogrodniczek P., Wójcik M.: Rola receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów γ (PPAR γ) w otyłości i insulinooporności, *Postepy Hig Med Dosw* 2013, 67: 1283–1299.
38. Ramírez G., Miguel Z., Pérez J., Zamilpa A.: In Vitro Screening of Medicinal Plants Used in Mexico as Antidiabetics with Glucosidase and Lipase Inhibitory Activities, *Evid-Based Compl Alt* 2012, Article ID 701261.
39. Herrera-Arellano A., Aguilar-Santamaría L., García-Hernández B., Nicasio-Torres P., Tortoriello J.: Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics, *Phytomedicine* 2004, 11: 561–566.
40. Kanyonga P.M., Faouzi M.A., Meddah B., Mpona M., Essassi E.M., Cherrah Y.: Assessment of methanolic extract of *Marrubium vulgare* for anti-inflammatory, analgesic and anti-microbiologic activities, *J Chem Pharm* 2011, 3: 199–204.
41. de Souza M.M., de Jesus R.A., Cechinel-Filho V., Schlemper V.: Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*, *Phytomedicine* 1998, 5: 103–107.
42. de Jesus R.A.P., Cechinel-Filho V., Oliveira A.E., Schlemper V.: Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*, *Phytomedicine* 2000, 7: 111–115.
43. Meyre-Silva C., Yunes R.A., Schlemper V., Campos-Buzzi F., Cechinel-Filho V.: Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare*, *Il Farmaco* 2005, 60: 321–326.
44. Fathiazad F., Rameshrad M., Asghari S., Hamedeyazdan S., Garjani A., Maleki-Dizaji N.: Phytochemical Screening and Anti-Inflammatory Effect of *Marrubium vulgare* L. Methanol Extract on Carrageenan-Induced Paw Inflammation in Rats, *Pharm Sci* 2017, 23: 3–11.
45. Akther N., Shawl A.S., Sultana S., Chandan B.K., Akhter M.: Hepatoprotective activity of *Marrubium vulgare* against paracetamol induced toxicity, *J Pharm Res* 2013, 7: 565–570.
46. Verma A., Masoodi M., Ahmed B.: Lead finding from whole plant of *Marrubium vulgare* L. with Hepatoprotective Potentials through in silico methods, *Asian Pac J Trop Biomed* 2012, 2: 1308–1311.
47. Elberry A.A., Harraz F.M., Ghareib S.A., Nagy A.A., Gabr S.A., Sulaiman M.I., Abdel-Sattar E.: Antihepatotoxic effect of *Marrubium vulgare* and *Withania somnifera* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats, *J Basic Clin Pharm* 2010, 1: 247–254.
48. Ettaya A., Dhibi S., Samout N., Elfeki A., Hfaiedh N.: Hepatoprotective activity of white horehound (*Marrubium vulgare*) extract against cyclophosphamide toxicity in male rats, *Can J Physiol Pharmacol* 2016, 94: 441–447.
49. Orhan I.E., Belhatha R., Şenol F.S., Gülpinar A.R., Hoşbaş S., Kartal M.: Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species, *Ind Crops Prod* 2010, 32: 566–571.
50. Paula de Oliveira A.V., Santin J.R., Lemos M., Klein Júnior L.C., Co-uto A.G., Meyre-Silva Bittencourt C., Filho V.C., Faloni de Andrade S.: Gastroprotective activity of methanol extract and marrubiin obtained from leaves of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae), *J Pharm Pharmacol* 2011, 63: 1230–1237.
51. Schlemper V., Ribas A., Nicolau M., Cechinel-Filho V.: Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues, *Phytomedicine* 1996, 3: 211–216.
52. Masoodi M.H., Bahar A., Zargar I.M., Khan A.S., Khan S., Singh P.: Antibacterial activities of whole plant extract of *Marrubium vulgare*, *African J Biotechnol* 2008, 7: 86–87.
53. Bokaeian M., Saboori E., Saeidi A., Niazi A.A., Amini-Borojeni N., Khaje H., Bazi S.: Phytochemical analysis, antibacterial activity of *Marrubium vulgare* L. against *Staphylococcus aureus* in vitro, *Zahedan J Res Med Sci* 2004, 16: 60–64.
54. Quave C.L., Plano L.R.W., Pantuso T., Bennett B.C.: Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *J Ethnopharmacol* 2008, 118: 418–428.
55. Zarai Z., Kadri A., Ben Chobba I., Ben Mansour R., Bekir A., Mejdoub H., Gharsallah N.: The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia, *Lipids Health Dis* 2011, 10:161–168.
56. Fayyad A., Ibrahim N., Yaacob W. A.: In vitro virucidal activity of hexane fraction of *Marrubium vulgare* against type 1 Herpes simplex virus, *American Journal of Drug Discovery and Development* 2013, 3: 84–94.

57. Bouterfas K., Mehdadi Z., Aouad L., Elaoufi M.M., Khaled M.B., Latreche A., Benchiha W.: La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Candida albicans*?, *J Mycol Med* 2016, 26: 201–211.
58. Ramos-Guerra M.C., Mata-Cárdenas B.D., Vargas-Villarreal J., Sampayo-Reyes A., González-Salazar F., Morales-Vallarta M., Saïd-Fernández S.: In vitro activity of organic leaf/stem extracts from *Marrubium vulgare* and *Mentha spicata* against *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*, *Pharmacology on line* 2007, 1: 108–112.
59. Molina-Garza Z.J., Bazaldúa-Rodríguez A.F., Quintanilla-Licea R., Galaviz-Silva L.: Anti-Trypanosoma cruzi activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico, *Acta Trop* 2014, 136: 14–18.
60. Paunovic V., Kosic M., Djordjevic S., Zugic A., Djalina N., Gasic U., Trajkovic V., Harhaji-Trajkovic J.: *Marrubium vulgare* ethanolic extract induces proliferation block, apoptosis, and cytoprotective autophagy in cancer cells in vitro, *Cell Mol Biol* 2016, 62: 108–114.
61. Yamaguchi K., Liggett J.L., Kim N.C., Baek S.J.: Anti-proliferative effect of horehound leaf and wild cherry bark extracts on human colorectal cancer cells, *Oncol Rep* 2006, 15: 275–281.
62. Aouni R., Ben Attia M., Jaafoura M.H., Bibi-Derbel A., Haouari M.: Effects of the hydro-ethanolic extract of *Marrubium vulgare* in female rats, *Asian Pac J Trop Med* 2017, 10: 160–164.