

*Paweł Kubica¹, Halina Ekiert¹, Radosław J. Ekiert², Agnieszka Szopa¹

Gatunki rodzaju *Cistus* sp. – taksonomia, występowanie, skład chemiczny, aplikacje terapeutyczne i badania biotechnologiczne

Species of the genus *Cistus* sp. – taxonomy, distribution, chemical composition, therapeutic applications and biotechnological studies

¹Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Kraków

Kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. n. farm. Halina Ekiert

²Krakowskie Zakłady Zielarskie „Herbapol” w Krakowie S.A.

Prezes Zarządu: mgr inż. Alina Lekstan

SUMMARY

In view of increasing popularity of *Cistus incanus* L. (hairy rockrose) as a medicinal plant in Poland, scientific literature on different *Cistus* species was reviewed with special attention given to *C. incanus*. The article presents basic information on taxonomy, geographical distribution and components characteristic of different species and on their potential therapeutic applications. Special consideration was given to biological activity of four species: *C. monspeliensis* L., *C. ladaniferus* L., *C. laurifolius* L., *C. salviifolius* L. Obviously, the most popular species in Poland, *C. incanus* was characterized in the greatest detail, taking into account problems with taxonomic classification and potential therapeutic applications, confirmed by scientific studies, that were presented alongside with the list of medicinal products and dietary supplements based on *C. incanus* available on pharmaceutical and herbal markets both in Poland and Europe. Further, progress in biotechnological studies of *Cistus* species, the majority of which were conducted on *C. incanus*, was outlined.

Keywords: *Cistus* species, *Cistus incanus*, chemical composition, therapeutic applications, biotechnological studies

STRESZCZENIE

W związku z rosnącą popularnością *Cistus incanus* (czystek szary, czystek siwy) jako rośliny leczniczej w Polsce, dokonano przeglądu piśmiennictwa dotyczącego różnych gatunków rodzaju *Cistus* sp., ze szczególnym uwzględnieniem *C. incanus*. W pracy przedstawiono podstawowe informacje dotyczące: taksonomii, rozmieszczenia geograficznego, głównych grup składników charakterystycznych dla poszczególnych gatunków oraz możliwych aplikacji terapeutycznych. Szczególną uwagę poświęcono aktywności biologicznej czterech gatunków: *C. monspeliensis*, *C. ladaniferus*, *C. laurifolius*, *C. salviifolius*. Najszerzej jednak scharakteryzowano najbardziej popularny w Polsce gatunek – *C. incanus*, uwzględniając kłopoty z klasyfikacją taksonomiczną, prezentując możliwe aplikacje terapeutyczne udowodnione badaniami naukowymi oraz listę produktów leczniczych i suplementów diety bazujących na *C. incanus*, dostępnych na rynku farmaceutycznym zarówno w Polsce, jak i w Europie. Przedstawiono ponadto stan badań biotechnologicznych gatunków rodzaju *Cistus* sp.; większość z nich dotyczy *C. incanus*.

Słowa kluczowe: gatunki rodzaju *Cistus* sp., *Cistus incanus*, skład chemiczny, zastosowania terapeutyczne, badania biotechnologiczne

Pamięci prof. dr hab. Jana Krzeka – kierownika Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, Dziekana Wydziału Farmaceutycznego w latach 2008-2015, który zmarł 1 lutego 2015 roku.

Taksonomia

Rodzaj Czystek – *Cistus* sp. – jest najważniejszą jednostką taksonomiczną rodziny *Cistaceae* (Czystkowate). Rodzina *Cistaceae* należy do rzędu *Malvales* (Ślázowce). Jest średniej wielkości rodziną, do której należy 8 rodzajów, obejmujących około 180 gatunków roślin zielnych i krzewów (1- 4). Wśród nich na szczególną uwagę zasługują gatunki należące

do rodzaju *Cistus* sp., których, jak podają różne źródła, jest około 20 (tab. 1) (4).

Obecny podział taksonomiczny rodzaju *Cistus* sp. oparty jest, mimo powszechności badań genetycznych, nadal głównie na cechach wyglądu morfologicznego organów wegetatywnych i generatywnych. Różnicowanie taksonomiczne najczęściej przeprowadza się na podstawie cech fenotypowych, takich jak:

Tab. 1. Gatunki rodzaju *Cistus* sp. oraz ich występowanie

Gatunek	Występowanie
<i>C. albanicus</i> EF Warburg ex Heywood	Albania, Grecja
<i>C. albidus</i> L.	Algieria, Baleary, Chorwacja, Francja, Hiszpania, Portugalia, Włochy
<i>C. asper</i> Demoly & Mesa	Wyspy Kanaryjskie
<i>C. chinamanadensis</i> C.	Wyspy Kanaryjskie
<i>C. clusii</i> Dunal	Algieria, Baleary, Hiszpania, Maroko, Tunezja, Włochy
<i>C. crispus</i> L.	Francja, Hiszpania, Portugalia, Rosja
<i>C. heterophylus</i> Desf.	Algieria, Hiszpania, Maroko, Półwysep Iberyjski
<i>C. horrens</i> Demoly	Wyspy Kanaryjskie
<i>C. incanus</i> L. (= <i>C. creticus</i> L.)	Albania, Bułgaria, Francja, Grecja, Liban, Maroko, Syria, Turcja, Włochy
<i>C. inflatus</i> Pourr. ex Demoly	Francja, Hiszpania
<i>C. ladanifer</i> L.	Algieria, Francja, Hiszpania, Kalifornia, Maroko, Portugalia, Wyspy Kanaryjskie
<i>C. laurifolius</i> L.	Maroko, Europa Południowo-Zachodnia, Turcja
<i>C. libanotis</i> L.	Algieria, Hiszpania
<i>C. monspeliensis</i> L.	Albania, Chorwacja, Francja, Hiszpania, Malta, Afryka Północna, Turcja, Wyspy Kanaryjskie
<i>C. munbyi</i> Pomel	Algieria, Maroko
<i>C. ochreatus</i> C. Sm. ex Buch	Wyspy Kanaryjskie
<i>C. osbeckiifolius</i> Webb ex Christ	Hiszpania, Wyspy Kanaryjskie
<i>C. parviflorus</i> Lam.	Anglia, Cypr, Grecja, Kreta, Turcja
<i>C. populifolius</i> L.	Francja, Hiszpania, Maroko, Portugalia
<i>C. psilosepalus</i> Sweet	Portugalia, zachodnia Hiszpania
<i>C. pouzolzii</i> Del.	Francja, Maroko
<i>C. salvifolius</i> L.	Albania, Bułgaria, Chorwacja, Francja, Grecja, Hiszpania, Libia, Maroko, Tunezja, Turcja, Włochy
<i>C. sintenisii</i> de Lit.	Albania
<i>C. symphitifolius</i> Lam.	Hiszpania, Wyspy Kanaryjskie

kształt i kolor kwiatów, kształt, unerwienie i kolor liści, budowa owocu (1, 5-7). Systematyka rodzaju *Cistus* jest dość skomplikowana głównie ze względu na polimorfizm i tworzenie licznych hybryd między pokrewnymi gatunkami (8, 9). Częstym zjawiskiem jest występowanie w obrębie rodzaju licznych podgatunków, jak na przykład: *C. creticus* ssp. *creticus*, *C. creticus* ssp. *eriocephalus*, *C. creticus* ssp. *corsicus* (10).

W ostatnich latach szczególnym zainteresowaniem, ze względu na cenne aspekty działania farmakologicznego, cieszy się czystek szary (= czystek siwy) – *Cistus incanus* L. (ryc. 1). Gatunek ten znany jest też pod nazwami zwyczajowymi – skalna róża, święta róża (Hocking, 1997) (5, 6, 12). Filogeneza tego gatunku jest skomplikowana i, jak się wydaje, nie do końca wyjaśniona. Nazwa *Cistus creticus* L. często używana jest jako synonimowa dla *Cistus incanus* L. Jak wynika z nowszych ustaleń taksonomów, *C. incanus* L. jest mieszańcem *C. albidus* L. oraz *C. crispus* L. (3). W niniejszym opracowaniu przedstawiono opisy ważniejszych gatunków rodzaju *Cistus* sp., ze szczególnym uwzględnieniem *C. incanus*. Przyjęto, że *C. creticus* to synonim *C. incanus*.

Występowanie

Gatunki rodzaju *Cistus* sp. są ważnym elementem pól suchych ekosystemów basenu Morza Śródziemnego. Tworzą one gęste zarośla na ubogich, suchych, kamienistych glebach, najczęściej wapiennych (1, 5, 6, 12, 13). Wszystkie gatunki występują na stanowiskach ciepłych,



Ryc. 1. Ziele *C. incanus* (11)

naświetlonych. Są roślinami o zróżnicowanej wielkości – od niewielkich rozmiarów roślin zielnych, aż po dorastające do 3 metrów wysokości krzewy (5). Liście wszystkich gatunków gromadzą olejki eteryczne i żywice, które bywają przyczyną pożarów (6, 14).

Poszczególne gatunki rodzaju *Cistus* sp. charakteryzują się swoistym rozmieszczeniem. Obszary występowania poszczególnych gatunków zebrano w tabeli 1. Kraje, na terenie których występuje *Cistus incanus* L., zaznaczono na rycinie 2 (1, 5).

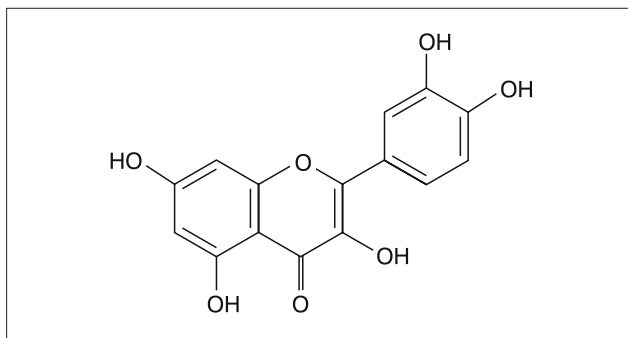
Składniki chemiczne charakterystyczne dla gatunków rodzaju *Cistus* sp.

Badania składu chemicznego różnych gatunków rodzaju *Cistus* sp. wskazują, że rośliny te bogate są w związki flawonoidowe, szczególnie w: kwercetynę (ryc. 3), kemferol, flawono-3-ole oraz inne związki fenolowe, takie jak: katechiny, galokatechiny, proantocyjanidyny. Inne grupy związków reprezentowane są przez: terpeny, kwasy tłuszczowe, fitohormony i witaminy. Zawartość metabolitów wtórnych różni się w zależności od gatunku czy podgatunku i w dużej mierze zależy od warunków, w jakich rośliny rosną (7, 6, 12, 15, 16).

Wszystkie gatunki gromadzą olejki eteryczne. Analizy dotyczące składu olejków eterycznych wykazały obecność w olejku *C. ladanifer* głównie 1,8-cyneolu (19,27%) i wiridiflorolu (16,38%), a w olejku z *C. monspeliensis* głównie 1,8-cyneolu (9,14%), octanu bornylu (3,14%) oraz α -pinenu (5,84%) (8). Z kolei olejek eteryczny *C. creticus* ssp. *eriocephalus* charakteryzuje się wysoką zawartością seskwiterpenów, a w olejkach *C. creticus* ssp. *corsicus* i *C. creticus* ssp. *creticus* dominują diterpeny. Te dane potwierdzają dużą zmienność związków chemicznych



Ryc. 2. Państwa o największym rozpowszechnieniu *C. incanus* L.



Ryc. 3. Struktura chemiczna kwercetyny

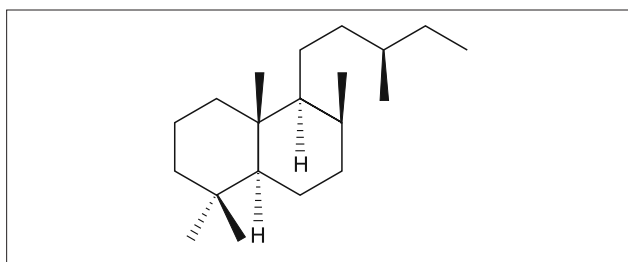
w poszczególnych gatunkach i podgatunkach rodzaju *Cistus* sp. (10).

Liście i łodygi wszystkich gatunków zawierają brązową żywicę składającą się głównie z terpenów, w tym szczególnie diterpenów (17).

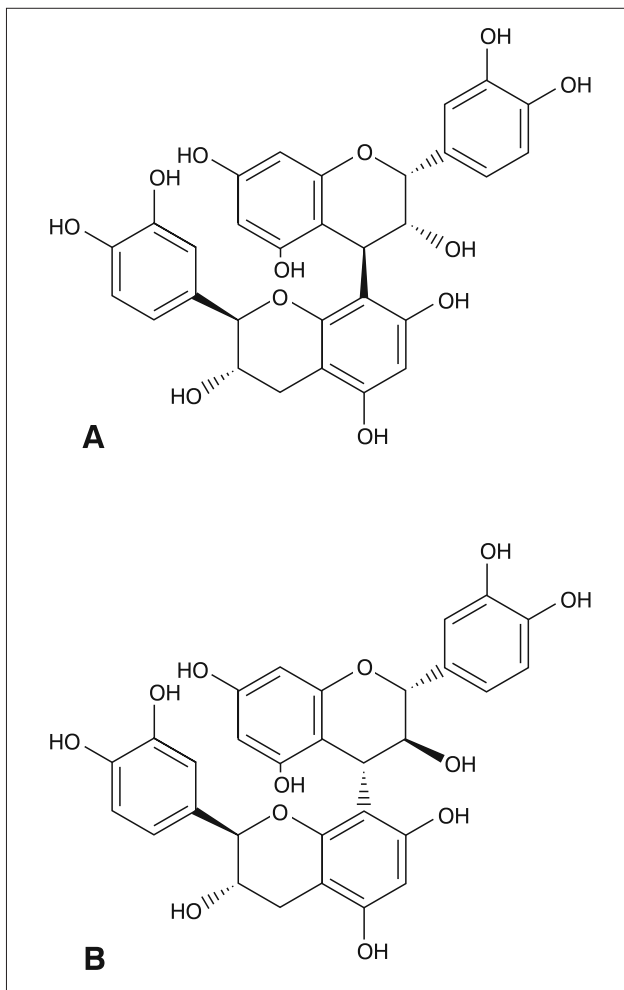
W ekstraktach etanolowych z ziela *C. laurifolius* stwierdzono obecność: flawonoidów (apigeniny, kwercetyny oraz jej 3-metylowej pochodnej, kemferolu, naryngeniny, luteoliny i jej pochodnych), diterpenów, seskwiterpenów oraz kwasów fenolowych: galusowego, elagowego i chlorogenowego (18-20).

W wodnych ekstraktach z ziela *C. salvifolius* potwierdzono obecność ponad 48 związków o charakterze polifenoli – flawonoidów i flawonoli. Ekstrakty te zawierają: katechiny, galokatechiny, 3-O- α -L-ramnozyd katechiny, proantocyjanidyny B₁ i B₃ (ryc. 4), różne izomery di- i triPOCHODNYCH galokatechiny oraz garbniki katechinowe (21).

Metabolity wtórne wyizolowane z liści *C. incanus* to flawonoidy, głównie: kwercetyna, kemferol, mirycetyna, apigeina, rutyna, luteolina oraz inne związki polifenolowe: katechyna, galokatechyna, galusan galokatechiny, proantocyjanidyny B₁ i B₃. Kolejną grupę metabolitów wtórnych, których obecność stwierdzono w podgatunkach *C. incanus*, stanowią terpeny: monoterpény, takie jak mircen i limonen, oraz diterpeny typu labdanu (ryc. 5). Szczególnie dużą zawartość terpenów stwierdzono w ekstraktach z liści *C. creticus* ssp. *eriocephalus* rosnących na Krecie. Z kolei w oleju



Ryc. 5. Podstawowa struktura chemiczna diterpenów typu labdanu

Ryc. 4. Struktura chemiczna proantocyjanidyny B₁ (A) oraz proantocyjanidyny B₃ (B)

eterycznym *C. creticus* ssp. *eriocephalus* (rosnącego na terenie Grecji) dominowały seskwiterpeny utlenione i nieutlenione. Głównymi kwasami fenolowymi obecnymi w *C. incanus* i jego podgatunkach są: kwas galusowy oraz jego pochodne (heksahydroksydifenilo-glukoza) (1, 7, 10).

Aktywność biologiczna i walory terapeutyczne *Cistus incanus* L.

Do surowców farmaceutycznych zalicza się ziele i liście czystka – *Cisti herba* i *Cisti folium*, pozyskiwane z *Cistus incanus*. Jak dotąd nie są one uznawane w krajach europejskich za surowce farmakopelne. Mimo to zainteresowanie nimi rośnie z roku na rok. Dzieje się tak dzięki ich korzystnym właściwościom leczniczym.

Obecne aplikacje surowców wynikają z ich wieloletniego zastosowania, głównie w tradycyjnej medycynie bliskowschodniej, w tym szczególnie w medycynie

tureckiej. Ziele i liście czystka wykorzystywane były m.in. jako środki przeciwzapalne w chorobach skóry, w reumatyzmie i zapaleniu nerek. Cenione były również ze względu na działanie przeciwwrzodowe, przeciwbiegunkowe i przyspieszające gojenie ran (22-24). Surowce te coraz większą popularność zdobywają także w lecznictwie europejskim. Napary z ziela lub z liści wykorzystywane są w profilaktyce różnych chorób (18).

Obecnie ziele i liście czystka rekomendowane są jako surowce działające przeciwbakteryjnie, przeciw-wirusowo, przeciwgrzybiczo, a także wzmacniająco na układ odpornościowy (2, 22, 23). Jako najważniejszy profil aktywności biologicznej uznaje się aktywność przeciwutleniającą, wynikającą ze składu surowców. Polecane są one jako suplementy diety w profilaktyce chorób przewlekłych, takich jak nadciśnienie, cukrzyca czy choroba Alzheimera (14, 22). European Food Safety Authority (EFSA) rekomenduje wymienione surowce jako bogate, naturalne źródło substancji przeciwutleniających (25).

Nadal prowadzone są badania naukowe, które potwierdzają znane, tradycyjne zastosowania, jak również wykazują nowe profile aktywności biologicznej ekstraktów z wymienionych surowców oraz wyizolowanych z surowców metabolitów wtórnych.

Wykorzystywane w tradycyjnej bliskowschodniej medycynie, w tym szczególnie w medycynie tureckiej, właściwości spazmolityczne (w leczeniu biegunek i chorób układu pokarmowego) oraz hipotensyjne zostały poparte badaniami naukowymi. Udowodniono, że wodne ekstrakty z liści *C. incanus* w warunkach *in vitro* działają rozkurczająco na wyizolowane mięśnie gładkie jelit i aorty (1, 16).

Właściwości gastroprotecyjne wodnych ekstraktów z ziela poparte zostały badaniami na szczurach, u których wywoływano zmiany patologiczne przy użyciu związków takich jak: kwas solny, etanol absolutny, indometacyna, serotonina oraz rezerpina. Szczurom podawano doustnie ekstrakt z *C. incanus* w ilości 0,25-0,5 g/kg m.c. W badaniu stwierdzono znaczący efekt gastroochronny u wszystkich osobników grupy badanej (1, 17)

Wodne ekstrakty wykazują zależną od dawki regulację wzrostu, żywotności i uwalniania cytokin przez ludzkie leukocyty. Efektem jest normalizacja liczby komórek układu odpornościowego oraz odpowiedzi immunologicznej, co prowadzi do zmniejszenia uszkodzeń wywołanych nadmierną odpowiedzią immunologiczną i przyspiesza proces leczenia (26).

Zastosowanie części nadziemnych *C. incanus* w leczeniu chorób skóry oraz stanów zapalnych znajduje odzwierciedlenie w działaniu przeciwutleniającym.

Badania dowiodły, że zawarte w ekstraktach wodnych składniki mają silne właściwości przeciwutleniające. Stwierdzono znaczne zmniejszenie peroksydacji lipidów, ochronny wpływ na DNA oraz zmniejszenie stężenia wolnych rodników zależne od dawki. Właściwości te mogą być wykorzystywane w leczeniu i profilaktyce chorób związanych ze stresem oksydacyjnym (1, 21).

Surowce pozyskiwane z *C. incanus* wykazują ponadto właściwości neuroochronne. Hamują aktywność butyrylocholinoesterazy, natomiast ich wpływ na acetylocholinoesterazę jest słabszy (22).

Badania prowadzone na hodowlach *in vitro* *C. creticus* ssp. *creticus* udowodniły działanie cytotoksyczne tego podgatunku. Wykazano, że etanolowe ekstrakty z hodowli *in vitro* tej rośliny hamują rozwój linii komórkowych raka szyjki macicy (HeLa), raka piersi (MDA-MB-453) oraz czerniaka (FemX). Za działanie to odpowiadają diterpeny typu labdanu (10).

Działanie przeciwdrobnoustrojowe zostało potwierdzone badaniami na hodowlach komórkowych oraz na grupie pacjentów z zakażeniami górnych dróg oddechowych. W badaniach *in vitro* stwierdzono hamowanie przez ekstrakty populacji wirusa grypy ptasiej oraz ludzkiej, a równocześnie nie stwierdzono znaczącego wpływu na użyte w badaniach komórki. Stwierdzono również brak oporności wirusów na składniki ekstraktu (w przeciwieństwie do amantadyny, którą zastosowano w celach porównawczych). Badania kliniczne również potwierdziły skuteczność działania ekstraktów z czystka. W grupie pacjentów, której podawano ekstrakt wodny (Cystus052), stwierdzono zmniejszenie subiektywnych objawów w porównaniu z grupą kontrolną. W grupie badanej nastąpiło także zmniejszenie stężenia markerów stanu zapalnego (1, 27, 28).

Badania *in vitro* potwierdziły również działanie olejku eterycznego z *C. incanus* na *Borrelia burgdorferi*. Analizowano działanie ekstraktów uzyskanych z liści z użyciem rozpuszczalników o różnej polarności oraz olejku otrzymanego przez destylację z parą wodną. Stwierdzono, że najsilniejsze działanie wykazuje olejek eteryczny. W hodowlach *in vitro* olejek w stężeniu 0,02% w ciągu ośmiu dni ograniczył wzrost bakterii do 2% w stosunku do próby kontrolnej. Ekstrakty wodne, w przeciwieństwie do uzyskanych z użyciem heksanu czy octanu etylu, nie hamowały wzrostu bakterii (29).

Ponadto naukowe badania potwierdziły działanie przeciwpierwotniakowe wyizolowanych z części nadziemnych składników aktywnych biologicznie, w stosunku do *Leishmania donovani* (30).

Aktywność biologiczna i działanie terapeutyczne innych gatunków rodzaju *Cistus* sp.

Większość badań naukowych z zakresu aktywności biologicznej i działania terapeutycznego składników innych gatunków rodzaju *Cistus* sp. skupia się na: *C. ladaniferus* L. (czystek żywicowy), *C. laurifolius* L. (czystek wawrzynolistny), *C. monspeliensis* L. (czystek z Montpellier) oraz *C. salvifolius* L. (czystek szalwiolistny).

Poniżej przedstawione zostały kierunki aktywności biologicznej wymienionych gatunków rodzaju *Cistus*, potwierdzone badaniami naukowymi.

Cistus ladaniferus L. – czystek żywicowy

Badania na modelach zwierzęcych wykazały silny wpływ hipotensyjny ekstraktów wodnych z liści *C. ladaniferus*. Wykazano, że efekt ten jest związany z bezpośrednim wpływem wazodylatacyjnym na śródbłonek naczyń krwionośnych (31).

Ekstrakty z pyłku pszczelego *C. ladaniferus* działają stymulująco na formowanie kości i zmniejszają ich resorpcję. Ekstrakty z pyłku zwiększają proliferację osteoblastów oraz hamują działanie osteoklastów. Działanie to zostało potwierdzone zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* (32, 33).

Ekstrakty z liści *C. ladaniferus* wykazują ponadto działanie przeciwgrzybicze. Badania udowodniły, że zawarte w nich składniki wykazują silny efekt hamujący w stosunku do *Candida albicans*, *Candida glabrata* i *Candida parapsilosis*. Wyniki te są istotne, szczególnie ze względu na oporność tych drobnoustrojów na antybiotyki i brak skuteczności klasycznych metod terapii przeciwgrzybiczych (34).

Cistus laurifolius L. – czystek wawrzynolistny

Działanie hipoglikemiczne ekstraktu z liści potwierdzono badaniami na szczurach z hiperglikemią wywołaną podaniem wysokich dawek glukozy oraz na szczurach z hiperglikemią wywołaną podaniem streptozocyny. Podanie ekstraktów wodnych i etanolowych z liści *C. laurifolius* obniżało poziom cukru we krwi szczurów z hiperglikemią wywołaną streptozocyną oraz wykazywało lekkie działanie hipoglikemiczne u drugiej grupy badanych zwierząt. Działanie to było związane z obniżeniem poziomu α -glukozydazy i α -amylazy. Badania dowodzą, że ekstrakty te mogą być z powodzeniem stosowane jako inhibitory α -glukozydazy i α -amylazy u pacjentów z cukrzycą (18).

Badania nad wyizolowanymi z liści *C. laurifolius* flawonoidami potwierdziły działanie antyhepatotoksyczne.

Wyniki oparte na badaniu stężenia aminotransferazy alaninowej, aminotransferazy asparaginianowej, glutationu oraz stopnia peroksydacji lipidów (w wątrobie i w osoczu) wykazały efekt hepatoprotectywny oraz silne przeciwutleniające działanie badanych flawonoidów (19).

Badania prowadzone na szczurach i myszach wykazały, że ekstrakty z kwiatów i pąków kwiatowych tego gatunku mają działanie przeciwrzodowe i hamują rozwój bakterii *Helicobacter pylori* (4). Z chloroformowych ekstraktów wyizolowano związki odpowiedzialne za hamowanie rozwoju *H. pylori* i wyznaczono ich minimalne stężenie hamujące (MIC). Najsilniejsze działanie hamujące wykazała izoramnetyna. Udowodniono, że wyizolowane z ekstraktów flawonoidy mogą być alternatywą lub dodatkowym czynnikiem możliwym do zastosowania w obecnie prowadzonej terapii choroby wrzodowej (20).

Badania potwierdziły również, że zawarte w ekstraktach z liści i niezdrewniałych pędów flawonoidy wykazują silne działanie przeciwzapalne i przeciwnocyceptywne (przeciwbólowe) (20, 24).

Potwierdzono również działanie przeciwutleniające i przeciwzapalne ekstraktów z liści *C. laurifolius*. Badania na myszach dowiodły, że efekt przeciwzapalny związany jest z hamującym wpływem flawonoidów oraz innych związków zawartych w ekstraktach z liści. Wybrane wyizolowane flawonoidy, o najsilniejszym działaniu przeciwzapalnym, wykazywały znaczący efekt przeciwnocyceptywny, przy równoczesnej niskiej toksyczności (24, 35).

Cistus monspeliensis L. – czystek z Montpellier

Badania nad działaniem przeciwutleniającym wyciągów wodnych z części nadziemnych *C. monspeliensis* wykazały jego ochronny wpływ na DNA oraz zdolność do neutralizowania wolnych rodników. Dodatkowo udowodniono zmniejszenie peroksydacji lipidów w mikrosomach wątroby szczurów. Wykazano, że właściwości przeciwutleniające *C. monspeliensis* są silniejsze niż *C. incanus*. Ekstrakty te wykazują właściwości fotoochronne dla skóry i mogą być wykorzystywane w chorobach skóry, w których stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę (21).

W badaniach *in vitro* wykazano ponadto działanie przeciwpierwotniakowe surowego ekstraktu z ziela na kulturę *Leishmania donovani* (32).

Wykorzystywane w medycynie ludowej działanie spazmolityczne zostało potwierdzone badaniami *in vitro* prowadzonymi na komórkach mięśni jelit. Miorelaksacyjne działanie w stosunku do komórek mięśniówki aorty i efekt wazodylatacyjny uzasadniony

jest wykorzystaniem *C. monspeliensis* w terapii nadciśnienia (16).

Ekstrakty z liści tego gatunku wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe. Badania wykazały, że najbardziej podatne na działanie ekstraktów z *C. monspeliensis* były szczepy *Staphylococcus aureus* i *Candida glabrata* (36).

Działanie neuroochronne *C. monspeliensis* świadczy o możliwościach zastosowania tego gatunku w terapii chorób neurodegeneracyjnych, szczególnie w chorobie Alzheimera. Badania wykazały działanie hamujące składników olejku eterycznego tego gatunku w stosunku do cholinoesteraz – enzymów rozkładających acetylocholinę. Stwierdzono również, że wyizolowane składniki mają słabsze działanie niż mieszanina składników olejku. Lipofilowe właściwości składników olejku ułatwiają ich penetrację do układu nerwowego, a działanie przeciwutleniające ma również duże znaczenie w ochronie neuronów (22).

***Cistus salvifolius* L. – czystek szalwiolistny**

Prowadzono badania nad wpływem wodnych ekstraktów z ziela *C. salvifolius* na kilka gatunków patologicznych bakterii. Porównanie wartości MIC wykazało, że obecne w ekstraktach flawonoidy wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec *Escherichia coli*, a związki o charakterze polarnym i inne flawonoidy wykazują działanie wobec *Staphylococcus aureus*. Potencjalne synergistyczne działanie zawartych w tym gatunku polifenoli wymaga dalszych analiz, jednak przeprowadzone już badania nad działaniem przeciwdrobnoustrojowym potwierdzają zasadność wykorzystania tej rośliny w medycynie (36).

Cistus salvifolius również wykazuje działanie neuroochronne. Stwierdzono, że składniki olejku eterycznego tego gatunku hamują działanie butyrylocholinoesterazy oraz silnie hamują acetylocholinoesterazę, co świadczy o możliwości jego wykorzystania w terapii choroby Alzheimera (22).

Badania biotechnologiczne

Dotychczasowe badania biotechnologiczne gatunków rodzaju *Cistus* sp. dotyczą głównie sposobów mikrorozmnażania tej rośliny.

Badania europejskich ośrodków naukowych

Pierwsze informacje na temat hodowli *in vitro* gatunków z rodzaju *Cistus* sp. pojawiają się w publikacji z 1991 roku dotyczącej mikrorozmnażania *C. purpureus* Lam. (*C. ladanifer* L. x *C. creticus* L.). Hodowle *in vitro* otrzymano w Paryżu w Narodowym Instytucie Ogródnictwa. Mikrosadzonki uzyskano z fragmentów pędów z węzłem, które hodowano na

podłożu Murashige'a i Skooga (MS) z dodatkiem różnych regulatorów wzrostu i rozwoju roślin: 6-benzyloaminopuryny (BAP), kwasu indolilo-3-masłowego (IBA) oraz kwasu indolilo-3-octowego (IAA) (37).

Kilka lat później (1995) Wydział Biologii Roślin Politechniki w Madrycie opublikował wyniki badań dotyczących mikrorozmnażania sześciu gatunków rodzaju *Cistus* sp.: *C. albidus* L., *C. chusii* Dunal, *C. ladanifer* L., *C. laurifolius* L., *C. psilosepalus* Sweet oraz *C. salvifolius* L. Dla wszystkich wymienionych gatunków udało się uzyskać mikrosadzonki i przenieść je do warunków *ex vivo*. Hodowle były prowadzone na pożywce MS z dodatkiem dwóch cytokinin: BAP i KIN oraz auksyny IBA (38).

Dla *C. incanus* opracowano, także z sukcesem, warunki mikrorozmnażania. W roku 2000 Instytut Agronomii Morza Śródziemnego (Chania, Grecja) opublikował wyniki prac dotyczących uzyskiwania mikrosadzonek ze szczytów pędów oraz pąków bocznych umieszczonych na pożywkach MS z dodatkiem kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D), kwasu naftylo-1-octowego (NAA) i BAP w różnych wariantach (39). Kolejny protokół mikrorozmnażania opublikował w roku 2003 Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Wydziału Rolnictwa Uniwersytetu Arystotelesa w Salonikach. Mikrosadzonki otrzymano z nasion umieszczonych na pożywce według Lloyd i McCown (WPN) z dodatkiem IAA lub NAA (40). W roku 2011 w tej samej placówce naukowej mikrosadzonki otrzymano przez szybką proliferację wierzchołków pędów na pożywce MS z dodatkiem: BAP, tidiazuronu IAA (41).

W roku 2012 opublikowano wspólne badania prowadzone przez trzy instytuty Uniwersytetu w Belgradzie (Instytut Badań Biologicznych, Instytut Onkologii i Radiologii Serbii oraz Instytut Badań Roślin Lecznicznych), dotyczące działania cytotoksycznego ekstraktów z biomasy hodowli *in vitro* *C. creticus* ssp. *creticus* w stosunku do komórek raka szyjki macicy i piersi oraz czerniaka (informacje te podano powyżej w części dotyczącej aktywności biologicznej gatunków rodzaju *Cistus* sp.). Hodowle prowadzone były na podłożach MS agarowych oraz płynnych bez dodatku regulatorów wzrostu i rozwoju roślin. Ekstrakty etanolowe z pędów oraz z korzeni z hodowli *in vitro* poddano analizie chromatograficznej (GC/FID i GC/MS) w celu określenia składu, a następnie przeprowadzono testy na liniach komórkowych w celu oceny potencjalnego działania cytotoksycznego. Tylko ekstrakty z biomasy z hodowli pędów wykazały aktywność cytotoksyczną w stosunku do komórek raka szyjki macicy (HeLa), raka piersi (MDA-MB-453) i czerniaka (FemX) (10).

Badania Zakładu Botaniki Farmaceutycznej UJ CM

W Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej UJ CM założono z powodzeniem kultury *in vitro* *C. incanus*. Wyprowadzono hodowle o różnym stopniu zróżnicowania – hodowle pędowe (ryc. 6) oraz hodowle kalusowe. W ramach prowadzonych badań naukowych testowane są różne typy hodowli: agarowe oraz płynne wytrząsane na podłożu według Murashige'a i Skooga z różnymi stężeniami regulatorów wzrostu i rozwoju roślin: auksyny – NAA oraz cytokininy – BAP w celu wytypowania podłoży pozwalających uzyskać największe przyrosty biomasy. W toku dalszych badań przewidziane są analizy fitochemiczne ekstraktów z biomasy pod względem zawartości kwasów fenolowych, garbników oraz flawonoidów.

Produkty z *C. incanus* dostępne na rynku farmaceutycznym i zielarskim

Produkty z *C. incanus* są dostępne zarówno na rynku polskim, jak i europejskim pod różnymi postaciami, np. jako suszone ziele lub liście, herbatki, kapsułki zawierające ekstrakt, kremy i inne. Surowce mogą występować jako zioła pojedyncze lub jako składniki preparatów złożonych. Dostępne na terenie Polski preparaty pochodzą z importu lub są produkowane na terenie naszego kraju z surowców pochodzących z plantacji głównie w Turcji, Grecji i Albanii. Do najbardziej znanych firm produkujących preparaty



Ryc. 6. Pędowe kultury *in vitro* *C. incanus* założone w Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej UJ CM

z *C. incanus* na terenie naszego kraju należą: Krakowskie Zakłady Zielarskie Herbapol w Krakowie S.A., Przedsiębiorstwo Produkcyjno-Usługowo-Handlowe Alter Medica, Zakłady Farmaceutyczne Colfarm S.A. oraz Zakład Konfekcjonowania Ziół Flos sp. j.

W kilku krajach europejskich, przede wszystkim w Niemczech, Austrii, we Włoszech i na Węgrzech, dostępne są produkty oparte na *C. incanus*. Stają się one też popularne w USA. Poniżej przedstawiono podstawowe informacje o krajowych, europejskich i pozaeuropejskich preparatach zawierających liście i ziele *C. incanus*.

Preparaty krajowe

Preparaty Krakowskich Zakładów Zielarskich Herbapol w Krakowie S.A.:

- Czystek kapsułki 30 sztuk – preparat składa się ze sproszkowanego liścia *C. incanus* (200 mg) w kapsułkach żelatynowych.
- Herbatka fix odporność z czystkiem – w skład preparatu wchodzi: owoc dzikiej róży (2 g), owoc czarnej porzeczki (1,2 g), liść czystka (0,6 g), znamiona kukurydzy (0,2 g).
- Herbatka Bolleriofix, w składzie której znajdują się: liść czystka (1,4 g), korzeń szczeci (0,8 g), owoc dzikiej róży (0,6 g), owoc aronii (0,4 g), owoc czarnej porzeczki (0,4 g), kwiat hibiskusa (0,4 g).
- Czystek w opakowaniach po 100 i 200 g – wysuszony i rozdrobniony liść *C. incanus*.
- Syrop z czystka z witaminą C – wzbogacony o witaminę C preparat zawiera 10% wyciągu z liści czystka.
- Żel z czystkiem – 170-gramowe opakowanie żelu z ekstraktem z liści czystka.
- Herbatka fix czystek – 30 saszetek zawierających po 1,3 g liści *C. incanus*.

Preparaty Przedsiębiorstwa Produkcyjno-Usługowo-Handlowego Alter Medica:

- Czystek – 60 kapsulek z ekstraktem z *C. incanus* 4:1 po 100 mg.

Preparaty Zakładów Farmaceutycznych Colfarm S.A.:

- Czystek – 60 tabletek zawierających po 250 mg wyciągu z czystka standaryzowanego na 5% polifenoli (1750 mg w przeliczeniu na suche ziele).

Preparaty Zakładu Konfekcjonowania Ziół Flos sp. j.:

- Ziele czystka (opakowania 100 oraz 250 g).
- Ziele czystka – 30 saszetek zawierających po 1 g ziela czystka.
- Czystek – 90 kapsulek zawierających po 350 mg sproszkowanego ziela czystka.

Przykładowe preparaty zagraniczne

Niemcy:

Firma Alsiroyal:

- Cistus PLUS Infektbloker – pastylki do ssania.

Firma Bad Heilburner:

- Tee Cistus Tee Filterbeutel – herbatka z czystkiem i pestkami granatowca.

Firma Dr. Finzel Pro Gesundheit GmbH:

- Angel Cistus – pastylki do ssania z ekstraktem z *C. incanus*.

Dr. Pandalis Urheimische Medizin GmbH & Co. KG:

- Cystus 052 Infektblocker – pastylki do ssania z ekstraktem z *C. incanus*.

Firma Krewel Meuselbach GmbH:

- Aspecton Immun – płyn na wzmocnienie układu odpornościowego.

Austria:

Firma Ökopharm:

- Immun 44 – suplement diety z dodatkiem ekstraktu z *C. incanus*.

Włochy:

Firma Bios Line:

- Immulene Forte – tabletki z ziołem czystka i sokiem z jeżówki.

Węgry:

Firma Herb-Pharma:

- ViroStop spray – spray zawierający ekstrakt z czystka, szafwii, aceroli i mięty.

USA:

Firma BioPure™:

- Cistus Incanus by BioPure™ – 45% roztwór alkoholowy z gatunku *C. incanus*.

Podsumowanie

Dostępne na świecie preparaty z gatunków rodzaju *Cistus* sp. w znacznej większości opierają się na czystku szarym – *C. incanus*, mimo iż badania naukowe potwierdziły działanie również kilku innych gatunków z tego rodzaju. Jak udowadnia niniejsze opracowanie, rosnąca popularność *C. incanus* jako rośliny leczniczej znajduje swoje uzasadnienie w potwierdzonym badaniami, wielokierunkowym działaniu prozdrowotnym. Lecznicze działanie tego gatunku wynika z obecności wielu polifenoli (m.in. flawonoidów, garbników, kwasów fenolowych), a preparaty oparte na liściach lub całym ziele tej rośliny, jako naturalne

źródło przeciwutleniaczy mogą być z powodzeniem polecane w profilaktyce oraz pomocniczo w terapii wielu chorób.

Piśmiennictwo

1. Al-Sheikh Hamed HHMA. Quality control of *Cistus incanus* containing pharmaceutical preparations. Master Thesis. Petra University Faculty of Pharmacy. Amman, Jordan 2009.
2. Hudy R, Wójcik A. Czyszek – śródziemnomorski cud natury. eco MEDiCo, Londyn 2015.
3. Guzmán B, Vargas P. Systematics, character evolution, and biogeography of *Cistus* L. (*Cistaceae*) based on ITS, trnL-trnF, and matK sequences. *Mol Phylogenet Evol* 2005; 37:644-60.
4. Ustun O, Gurbuz I, Kusmenoglu S i wsp. Fatty acid content of three *Cistus* species growing in Turkey. *Chem Natur Comp* 2004; 40:526-8.
5. Civeyrel L, Leclercq J, Demoly JP i wsp. Molecular systematics, character evolution, and pollen morphology of *Cistus* and *Halimium* (*Cistaceae*). *Plant Syst Evol* 2011; 295:23-54.
6. Bouamama H, Noël T, Villard J i wsp. Anti-microbial activities of the leaf extracts of two Moroccan *Cistus* L. species. *J Ethnopharmacol* 2006; 104:104-7.
7. Papaefthimiou D, Papanikolaou A, Falara V i wsp. Genus *Cistus* a model for exploring labdane-type diterpenes, biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. *Front Chem* 2014; 2:35.
8. Sendra E, Pérez-Alvarez JA, Fernández-López J i wsp. Identification of flavonoid content and chemical composition of the essential oils of Moroccan herbs. Myrtle (*Myrtus communis* L.), Rockrose (*Cistus ladanifer* L.) and Montpellier cistus (*Cistus monspeliensis* L.). *J Essent Oil Res* 2011; 23:1-9.
9. Paolini J, Falchi A, Quilichini Y i wsp. Morphological, chemical and genetic differentiation of two species of *Cistus creticus* L. (*C. creticus* ssp. *eriocephalus* and *C. creticus* ssp. *corsicus*). *Phytochem* 2009; 70:1146-60.
10. Skorić M, Todorović S, Gligorićević N i wsp. Cytotoxic activity of ethanol extracts of *in vitro* grown *Cistus creticus* ssp. *creticus* L. on human cancer cell lines. *Ind Crop Prod* 2012; 38:153-9.
11. Sweet R. Cistineae. The Natural Order of Cistus, Or Rock-rose. James Ridgway, London 1825-1830; ilustr. 44.
12. Fernández-Arroyo S, Barrajón-Catalán E, Micol V i wsp. High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compounds from a *Cistus ladanifer* aqueous extract. *Phytochem Anal* 2010; 21:307-13.
13. Maccioni S, Baldini R, Cioni PL i wsp. *In vivo* volatiles emission and essential oils from different organs and pollen of *Cistus albidus* from Caprione (Eastern Liguria, Italy). *Flavour Fragr J* 2007; 22:61-5.
14. Barrajón-Catalán E, Fernández-Arroyo S, Roldán C i wsp. A systematic study of the polyphenolic composition of aqueous extracts deriving from several *Cistus* genus species. Evolutionary relationship. *Phytochem Anal* 2011; 22:303-12.
15. Santagati NA, Salerno L, Attaguile G i wsp. Simultaneous determination of catechins, rutin and gallic acid in *Cistus* species extracts by HPLC with diode array detection. *J Chromatogr Sci* 2008; 46:150-6.
16. Attaguile G, Perticone G, Mania G i wsp. *Cistus incanus* and *Cistus monspeliensis* inhibit the contractile response in isolated rat smooth muscle. *J Ethnopharmacol* 2004; 92:245-50.
17. Attaguile G, Caruso A, Pennisi G i wsp. Gastroprotective effect of aqueous extract of *Cistus incanus* L. in rats. *Pharmacol Res* 1995; 31:29-32.
18. Orhan N, Aslan M, Sükküroğlu M i wsp. *In vivo* and *in vitro* antidiabetic effect of *Cistus laurifolius* L. and detection of major phenolic compounds by UPLC-TOF-MS analysis. *J Ethnopharmacol* 2013; 146:859-65.
19. Küpeli E, Orhan DD, Yesilada E. Effect of *Cistus laurifolius* L. leaf extracts and flavonoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *J Ethnopharmacol* 2006; 103:455-60.
20. Ustün O, Özçelik B, Akyön Y i wsp. Flavonoids with anti-*Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius*

- lius* leaves. J Ethnopharmacol 2006; 108:457-61. **21.** Attaguile G, Russo A, Campisi A i wsp. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. Cell Biol Toxicol 2000; 16:83-90. **22.** Loizzo MR, Jemia MB, Senatore F i wsp. Chemistry and functional properties in prevention of neurodegenerative disorders of five *Cistus* species essential oils. Food Chem Toxicol 2013; 59:586-94. **23.** Pomponio R, Gotti R, Santagati NA i wsp. Analysis of catechins in extracts of *Cistus* species by microemulsion electrokinetic chromatography. J Chromatogr A 2003; 1000:215-23. **24.** Küpeli E, Yesilada E. Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. J Ethnopharmacol 2007; 112:524-30. **25.** EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to various food(s)/food constituent(s) and protection of cells from premature aging, antioxidant activity, antioxidant content and antioxidant properties, and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006 [59 pp.]. EFSA J 2010; 8:1489. **26.** Lendeckel U, Arndt M, Wolke C i wsp. Inhibition of human leukocyte function, alanyl aminopeptidase (APN, CD13) and dipeptidylpeptidase IV (DP IV, CD26) enzymatic activities by aqueous extracts of *Cistus incanus* L. ssp. *incanus*. J Ethnopharmacol 2002; 79:221-7. **27.** Ehrhardt C, Hrinčius ER, Korte V i wsp. A polyphenol rich plant extract, Cystus052, exerts anti influenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance. Antiviral Res 2007; 76:38-47. **28.** Kalus U, Grigorov A, Kadecki O i wsp. *Cistus incanus* (Cystus052) for treating patients with infection of the upper respiratory tract A prospective, randomised, placebo-controlled clinical study. Antiviral Res 2009; 84:267-71. **29.** Hutschenreuther A, Birkenmeyer C, Grötzingler K i wsp. Growth inhibiting activity of volatile oil from *Cistus creticus* L. against *Borrelia burgdorferi* s.s. *in vitro*. Pharmazie 2010; 65:290-5. **30.** Fokialakis N, Kalpoutzakis E, Tekwani B i wsp. Antileishmanial activity of natural diterpenes from *Cistus* sp. and semisynthetic derivatives thereof. Biol Pharm Bull 2006; 29:1775-8. **31.** Belmokhtar M, Bouanani NE, Ziyat A i wsp. Antihypertensive and endothelium-dependent vasodilator effects of aqueous extract of *Cistus ladaniferus*. Biochem Biophys Res Commun 2009; 389:145-9. **32.** Yamaguchi M, Hamamoto R, Uchiyama S i wsp. Preventive effects of bee pollen *Cistus ladaniferus* extract on bone loss in streptozotocin-diabetic rats *in vivo*. J Health Sci 2007; 53:190-5. **33.** Yamaguchi M, Uchiyama S, Nakagawa T. Anabolic effects of bee pollen *Cistus ladaniferus* extract in osteoblastic MC3T3-E1 cells *in vitro*. J Health Sci 2007; 53:625-9. **34.** Barros L, Dueñas M, Alves CT i wsp. Antifungal activity and detailed chemical characterization of *Cistus ladanifer* phenolic extracts. Ind Crop Prod 2013; 41:41-5. **35.** Sadhu SK, Okuyama E, Fujimoto H i wsp. Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius*, a Turkish medicinal plant. J Ethnopharmacol 2006; 108:371-8. **36.** Tomás-Menor L, Morales-Soto A, Barrañón-Catalán E i wsp. Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species. Food Chem Toxicol 2013; 55:313-22. **37.** M'Kada J, Dorion N, Bigot C. *In vitro* propagation of *Cistus x purpureus* Lam. Sci Hort 1991; 46:155-60. **38.** Iriando JM, Moreno C, Pérez C. Micropropagation of six rockrose (*Cistus*) species. Hort Sci 1995; 30:1080-1. **39.** Pela Z, Pentcheva M, Gerasopoulos D i wsp. *In vitro* induction of adventitious roots and proliferation of *Cistus creticus* ssp. *creticus* L. plants. Acta Hort 2000; 541:315-22. **40.** Zygomala AM, Ioannidis C, Koropouli X. *In vitro* propagation of *Cistus creticus* L. Acta Hort 2003; 616:391-6. **41.** Madesis P, Konstantinidou E, Tsaftaris A i wsp. Micropropagation and shoot regeneration of *Cistus creticus* ssp. *creticus*. J App Pharm Sci 2011; 1:54-8.

Adres/address:

*mgr Paweł Kubica

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej

Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

tel./fax: +48 (12) 620-54-30

e-mail: p.kubica@doctoral.uj.edu.pl

Konflikt interesów**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 8.02.2016

zaakceptowano/accepted: 5.06.2016