

**Растительные субстанции иммуностимулирующего
и противоопухолевого действия на основе полипептидов
семейства фитолектинов: исследование и разработка подходов
для использования**

*О.Л. Канделинская¹, Е.Р. Грищенко¹, Н.А. Шуканова², Т.В. Шман³,
Е.П. Вашкевич³, А.Д. Таганович⁴, Е.А. Девина⁴, В.Ю. Афонин⁵, С.Э. Огурцова⁵
М.В. Анисович⁵, П.Н. Белый⁶, Т.С. Казакова⁷, Т.А. Марченко⁷, Н. Савицкене⁸,
Ю. Бернатонене⁸, А. Савицкас⁸,*

*¹Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича,
Национальная академия наук Беларуси*

*²Институт биофизики и клеточной инженерии, Национальная академия
наук Беларуси*

*³Научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Беларусь*

⁴Белорусский государственный медицинский университет, Беларусь

⁵Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси

⁶Центральный ботанический сад, Национальная академия наук Беларуси

⁷Белорусский государственный университет, Беларусь

⁸Литовский университет наук о здоровье, Литва, Каунас

e-mail: okandy@yandex.ru

Лекарственные растения дикорастущей и культурной флоры Европейского региона, особенно Литвы и Беларуси, представлены близким видовым и химическим составом. В справочниках по фармакопее среди биологически активных веществ растений указываются, в частности, алкалоиды, полифенолы, сапонины, флавоноиды, сердечные гликозиды, витамины и некоторые другие биомолекулы, однако отсутствуют сведения, касающиеся фармакологически значимых белков, таких как лектины, активность которых может сохраняться при различных технологиях обработки лекарственного растительного сырья, в том числе в сухом растительном сырье.

Лектины – это специфические белки неиммунной и неферментативной природы, которые, благодаря наличию углеводсвязывающих сайтов, обладают свойством обратимо и избирательно связывать углеводы и углеводные компоненты гликоконъюгатов. Вследствие этого, они могут принимать участие в процессах узнавания, обеспечения специфичности межмолекулярных взаимодействий; в процессах роста, размножения, фагоцитоза, иммунных и аллергических реакциях. Некоторые фитолектины обладают фунгистатическим действием, способны индуцировать секрецию инсулина, стимулировать интерфероногенез, проявлять противоопухолевую, противомикробную и противовирусную активность. Известно, что ряд лектинов лекарственных растений характеризуются иммуномодулирующим и цитостатическим действием. Появились данные об успешном использовании лектинов растений

в составе сборов при комплексном лечении псориаза, вирусных гепатитов В и С, сахарного диабета, герпеса. Некоторые фитолектины стимулируют деление лимфоцитов, обуславливая иммуномодулирующее действие данной группы белков. Показано также, что лектины, благодаря избирательному связыванию с углеводными детерминантами мембран опухолевых клеток, могут быть использованы в целях идентификации новообразований на начальных стадиях, прогнозирования опухолевой инвазии, контроля эффективности лечения. Анализ данных литературы свидетельствует о том, что применение лектинсодержащих лекарственных растений при различных воспалительных и вирусных заболеваниях не только сокращает длительность базовой терапии, но и повышает ее эффективность.

Цель исследований – идентификация, получение и исследование новых полипептидов семейства фитолектинов, и разработка подходов для их использования в качестве потенциальных иммуномодуляторов и цитостатиков.

В процессе работы Белорусской стороной проведены сбор, идентификация и скрининг 39 видов растений культурной и дикорастущей флоры Беларуси, принадлежащих к 15 семействам, по активности лектинов в различных органах растений. Установлено, что наибольшая активность лектинов характерна для подземной части растений и семян. Выявлены несколько перспективных видов, из которых в качестве источников получения лектинов для настоящей работы были выбраны лишайник цетрария исландская - *Cetraria Islandica* L., а также эхинацея пурпурная – *Echinacea purpurea* L. и чистотел большой - *Chelidonium majus* L. Белорусской стороной разработан способ получения из них препаратов фитолектинов. Показано, что экспериментальные образцы лектинов из эхинацеи (*Echinacea purpurea* agglutinin - EPA), чистотела (*Chelidonium majus* agglutinin - CMA) и цетрарии (*Cetraria islandica* agglutinin - CIA) обладали разной агглютинирующей активностью в отношении эритроцитов кролика, которую можно представить в следующей последовательности: EPA > CIA > CMA. EPA вызывал также агглютинацию эритроцитов человека в системе АВО, Rh⁺ и Rh⁻ независимо от пола, тогда как CMA не проявлял подобной активности. CIA взаимодействовал преимущественно с А-антигенами, агглютинируя эритроциты А (II) группы, Rh⁺, независимо от пола. Показано, что в опытах *in vitro* при одинаковой дозе EPA обладал более выраженной по сравнению с CMA иммуностимулирующей активностью в отношении иммунокомпетентных клеток - легочных макрофагов крыс; ЕК- и Т-клеток человека. Установлено, что препараты CIA и CMA характеризовались антипролиферативным действием в отношении клеток рака молочной железы человека (РМЖ), снижая их жизнеспособность, а также активность в них фермента ацетилхолинэстеразы, являющегося маркером клеточной дифференцировки. Показано, что ингибирующее влияние CIA на пролиферативную активность клеток РМЖ было сопоставимо с действием применяемых в клинической практике цитостатиков. Выявлены дозозависимые эффекты и индивидуальная чувствительность клеток РМЖ к действию CIA. Оценку токсичности препаратов фитолектинов проводили на лабораторных

мышцах линии ICR путем исследования острой токсичности после однократного перорального введения в определенных дозах. На примере препарата лектина СІА показано, что применение последнего не приводило к гибели животных. В ходе патологоанатомического исследования не выявлено патологических изменений внешнего вида и структуры органов, достоверных отличий массовых индексов органов у животных. Препарат СІА не приводил к гибели клеток в костном мозге и не вызывал альтераций в клеточном цикле. Согласно данным цитофлуориметрического анализа, препарат СІА стимулировал деление лимфоцитов и/или приводил к их аресту в клеточном цикле. Анализ тимоцитов также показал увеличение числа клеток с микроядрами. Отмечено увеличение гибели клеток, регистрируемых как гиподиплоидные апоптотические клетки. Полученные ДНК-тропные и цитотоксические эффекты находились в рамках нормы реакции тканей. Сделан вывод об отсутствии явных цитотоксических свойств СІА в костном мозге, периферической крови, селезенке и тимусе мышей после перорального введения.

В целях разработки подходов для практического использования полученных результатов Литовской стороной были изготовлены капсулы, в которые помещали препараты фитолектинов, полученные Белорусской стороной. Далее Белорусской стороной в экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что в составе капсул описанные выше иммуностимулирующее и противоопухолевое действие исследованных препаратов фитолектинов сохранялось.

Работа выполнена при поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ Б13ЛИТ-008 от 1 апреля 2013 г., протокол №2; Приказ ГКНТ РБ от 13.12.2012 г. № 427).