

УДК 616-006.441: 577.122

Максим ЛУЦИК¹, Наталія БОЙКО¹, Максим ЛУЦИК (мол.)², Ростислав СТОЙКА¹

**ОЧИСТКА САПОГЕНИНУ ІЗ НАСІННЯ ЧИСТОТІЛУ
(*CHELIDONIUM MAJUS L.*)
І ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ВПЛИВУ НА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНУ ЛІМФОМУ NK/Ly**

¹Інститут біології клітини НАН України,
вул. Драгоманова, 14/16, 79005 Львів, Україна

²Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
вул. Пекарська, 69, 79010 Львів, Україна

Із олії насіння чистотілу (*Chelidonium majus L.*) одержано речовину, яка відповідає сапогенінам за фізико-хімічними властивостями, а саме: ліпофільність, розчинність у водному етанолі, інтенсивне піноутворення, позитивна реакція Лібермана-Бурхарда, гемолітична дія, відсутність вуглеводів і фосфору (фосфоліпідів). Молекулярна маса основного компонента у препаратах за даними мас-спектрометрії становить 656 Da. Речовина нетоксична, при внутрішньочеревному введенні мишам у дозі 300 мг/кг не викликала загибелі тварин. В експериментах *in vivo* досліджено вплив речовини на ріст асцитної форми лімфоми NK/Ly мишей і цитоморфологію пухлинних клітин. При щоденному введенні речовини по 1 мг впродовж 10 днів, починаючи із наступного дня після інокуляції пухлинних клітин, відзначено затримку росту асциту і достовірне зменшення кількості пухлинних клітин у ньому. За даними цитоморфологічного аналізу речовина викликала значне ушкодження пухлинних клітин і достовірне підвищення зв'язування лектинів сочевиці й арахісу. При введенні речовини з інтервалом що 48 годин, а також при пізньому введенні (через 7 діб після інокуляції) вплив на ріст пухлини був слабо виражений, однак ушкодження клітин і зв'язування лектинів сочевиці й арахісу було достовірно вищим, ніж у контролі. Результати свідчать про слабо виражену протипухлинну дію сапогеніну насіння чистотілу і недоцільність його використання як самостійного хіміопрепарата. Обговорено можливість його застосування як ад'юванта в комплексі з активними протипухлинними препаратами.

Ключові слова: чистотіл, сапогеніни, протипухлинна активність, лімфома NK/Ly.

Чистотіл здавна застосовується у традиційній (народній) медицині для лікуванні низки захворювань, у тому числі онкологічних [1, 2]. Вважають, що основним діючим началом чистотілу є алкалоїди, які утворюють складну багатокомпонентну суміш речовин (близько 30) із різною біологічною активністю [6, 7]. Сапоніни

чистотілу, вміст яких у рослині досить значний, практично не досліджені в аспекті структури і біологічної, зокрема протипухлинної, активності. У багатьох популярних і наукових публікаціях стверджується наявність сапонінів у чистотілі кількома реченнями [1, 3, 4], стосовно ж спеціального дослідження сапонінів цієї рослини нами знайдено лише одну роботу [5].

Останнім часом значна увага приділяється протипухлинній активності сапонінів і сапогенінів у зв'язку з їхньою нешкідливою дією на нормальні клітини і невисокою, проте вибірковою токсичністю щодо пухлинних клітин [8–10]. Інтенсивні дослідження даммаранових сапогенінів привели до створення на їхній основі ефективних протипухлинних лікарських засобів, які успішно застосовуються в онкологічній клініці [11, 12]. У статті розроблено метод очищення речовини з властивостями сапогеніну із насіння чистотілу і представлено результати дослідження її впливу на ріст експериментальної лімфоми NK/Ly мишей та цитоморфологічні характеристики пухлинних клітин в експериментах *in vivo*.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили на асцитній формі лімфоми NK/Ly, яку пасажували на мишах лінії C57Bl. Штам одержано із колекції Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України (м. Київ). Перещеплення пухлини проводили згідно із загальноприйнятою методикою, інюкулювали 10 млн пухлинних клітин внутрішньочеревно [13]. Вплив досліджуваної речовини вивчали при ранньому введенні препарату, починаючи із 24 годин після інюкаляції пухлинних клітин, і при пізньому введенні препарату після дренажу асциту на 6–7-ий день росту пухлини. Клінічні показники впливу речовини включали динаміку росту пухлини, яку визначали щоденним зважуванням тварин, об'єм асциту при дренажі, концентрацію і загальну кількість клітин у ньому, тривалість життя тварин у досліді й контролі. Цитоморфологічні характеристики пухлинних клітин включали: 1) аналіз розподілу клітин у популяції за розміром (крива розподілу клітин згідно з їхнім діаметром, визначення середнього діаметра та відсотка клітин збільшених розмірів (діаметр більше $M+\sigma$); 2) визначення ступеня пошкодження пухлинних клітин шляхом морфометричного комп'ютерного аналізу мазків, забарвлених азур-еозином, бромфеноловим синім, гематоксиліном Делафільда і нейтральним червоним. Визначали відсоток клітин з порушеннями структури порівняно з клітинами першого дренажу контрольних тварин, які приймали за стандарт. У кожному мазку підраховували не менше 300 клітин на фотовідбитках із різних полів зору препарату.

Вуглеводні детермінанти поверхні пухлинних клітин характеризували по зв'язуванню лектинів (конканаваліну А, сочевиці, арахісу, зародків пшениці) непрямим імуноцитохімічним методом. Як другі антитіла для виявлення локалізації зв'язаних лектинів застосовували очищені антилектинові антитіла (отримані в лабораторії імунізації кролів), мічені колоїдним золотом за методом [16]. Візуалізацію частинок колоїдного золота для світлооптичної мікроскопії здійснювали методом фізичного проявлення ацетатом срібла (технологія відома під назвою immunogold silver staining) [14, 15].

Очистка сапогеніну із насіння чистотілу

Насіння чистотілу збирали у червні в місцях скупчень чистотілу. Насіння розмелювали на кавомолці, муку екстрагували диетиловим ефіром шляхом

перколяції в колонці чотирикратним об'ємом ефіру. Ефірний екстракт упарювали на роторному випаровувачі. Із 160 г муки отримали 62 г олії. Надалі, для уникнення повторів, леткі органічні розчинники видаляли на роторному випаровувачі.

50 г олії змішували із 250 мл етанолу, емульсію залишали при 4°C на добу, після чого центрифугували при 1500 хв⁻¹, відділяли верхній етанольний шар, із якого після видалення етанолу отримали 52 г олійного залишку. До нього додавали 300 мл 0,2 н сульфатної кислоти і струшували до отримання однорідної драглистої маси, яку залишали при кімнатній температурі на 12–18 годин (протягом ночі). Після цього масу центрифугували при 3000 хв⁻¹ 20 хвилин, невеликий об'єм олії (близько 25 мл) видаляли, драглисту масу промивали водою у кристалізаторі або упарювальній чашці. Отриману масу доводили до рН 10 за допомогою 2 н NaOH із застосуванням гомогенізатора типу Поттера-Ельвейєма, й отримували колоїдний розчин. До нього додавали 1 н HCl при постійному перемішуванні до рН 8,0, після чого додавали 10% розчин CaCl₂ для коагуляції розчину. рН при цьому знижувалось до 5,8. Суміш залишали в холодильнику на ніч, коагулят відділяли фільтруванням на ситі 100 меш (із штучного волокна) і промивали на ситі водою. Після підсушування на плоскій поверхні отримали 58 г сирої маси.

Отриману масу суспендували у 300 мл ацетону, нерозчинну речовину збирали центрифугуванням при 2000 хв⁻¹ і осад промивали 100 мл ацетону. Після висушування осаду на фарфоровій тарілці отримали 7,4 г речовини у формі порошку.

Для виділення фракції сапогенінів отриманий порошок розмішували у 15 мл 2 н сульфатної кислоти, суміш екстрагували 40 мл диетилового ефіру. Після видалення ефіру отримали олію, яку розчинили у 10 мл етанолу. Видаливши етанол, отримали 5 мл олійного залишку. Його розчинили у 25 мл етанолу, розчин центрифугували при 3000 хв⁻¹ 10 хвилин, до прозорого супернатанту додавали 3 мл метанольного розчину 1 М метилату натрію і суміш залишали при 4°C на кілька годин. Кристалічний осад, який сформувався за цей час, відділяли центрифугуванням (осад № 1, волога маса 4,2 г). До прозорого супернатанту додавали 1,5 мл 1 М розчину метилату натрію і залишали при 4 °C на 12–16 годин. Кристалічний осад відділяли центрифугуванням (осад № 2, волога маса 3,5 г). До супернатанту додавали 3 об'єми ацетону, осад збирали центрифугуванням, промивали невеликим об'ємом ацетону і висушували (осад № 3, вихід – 1 г повітряно сухої речовини).

Властивості отриманих фракцій

Осад № 1 практично нерозчинний у етанолі, розчиняється у 50% водному етанолі при 40°C, що було використано для перекристалізації речовини. Для цього 4,2 г вологого осаду № 1 розмішували у 6 мл етанолу, додавали 6 мл води і суміш нагрівали до 45°C, незначний нерозчинний залишок відділяли короткотривалим центрифугуванням, супернатант залишали при кімнатній температурі для кристалізації. Після двох циклів перекристалізації отримали 380 мг повітряно сухої речовини. Речовина давала позитивну реакцію Лібермана-Бурхарда. Вуглеводів і фосфору (відповідно фосфоліпідів) у її складі не виявлено, мінімальна гемолітична концентрація 30–35 мкг/мл. За результатами мас-спектрометричного аналізу молекулярна маса речовини становить 656 Da.

Осад № 3, тверда речовина консистенції мила, розчинна у водному етанолі, позитивна реакція Лібермана-Бурхарда, вуглеводів і фосфору (відповідно фосфоліпідів) не виявлено, мінімальна гемолітична концентрація 32 мкг/мл. Молекулярна маса головного компоненту 656 Da (рис. 1).

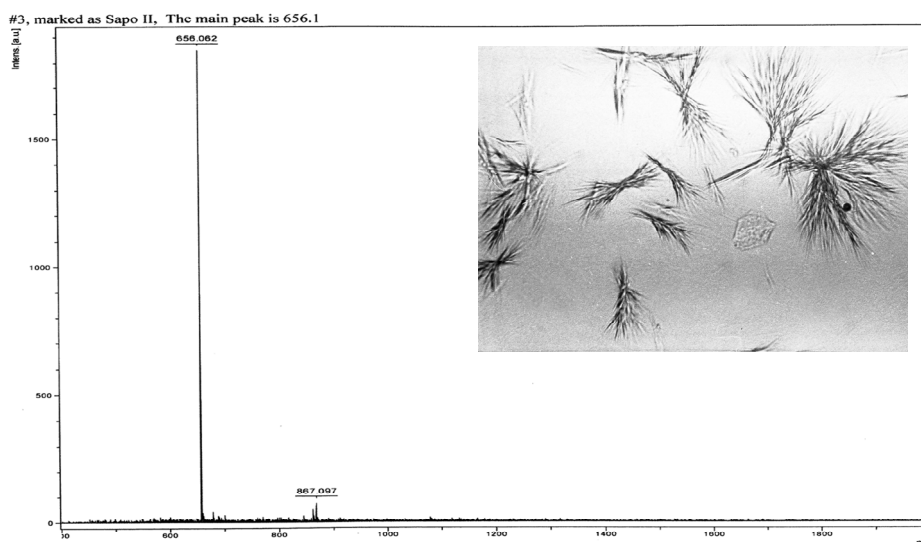


Рис. 1. Мас-спектр сапогеніну чистотілу (метод MALDI-TOF). Молекулярна маса основного піку 656,1. На вкладці кристали сапогеніну, отримані з 50% етанолу.

Мас-спектрометричний аналіз проведено Т.В. Стасиком (Біоцентр Іннсбрукського університету, Австрія), за що висловлюємо щирю подяку.

У дослідях впливу на лімфому NK/Ly використовували речовину осаду № 3, яка добре розчинна у водно-етанольному розчиннику. Із неї *ex tempore* готували розчини для внутрішньочеревного введення. Для цього 2 мг речовини вносили у стерильну пробірку (5×50 мм), додавали 10 мкл етанолу і розмішували вміст до однорідної маси скляною паличкою. Вносили 5 мкл 1% спиртового розчину лево-міцетину і 0,4 мл води для ін'єкцій, при цьому спостерігалось повне розчинення речовини. Зразу вводили 0,2 мл розчину внутрішньочеревно, що відповідає 1 мг сапогеніну. Розчин тривалому зберіганню не підлягає. Залежно від кількості мишей у досліді, об'єм ін'єкційного розчину пропорційно збільшували в $n + 1$ доза, де n – кількість дослідних мишей.

Результати дослідження

На рис. 2 наведено криву росту асцитної пухлини NK/Ly в контролі та при різних режимах раннього введення препарату сапогеніну. При ранньому введенні препарату щоденно протягом 9 днів у дозі 50 мг/кг спостерігали гальмування проліферації пухлинних клітин і сповільнення росту асциту. Загальна кількість клітин в асциті у дослідних мишей була у 2,4–2,5 разу менша, ніж у контролі (табл. 1). При другому дренажі об'єм асциту в дослідних мишей був більший, ніж у контролі, що може бути зумовлено подразненням очеревини систематичними ін'єкціями речовини.

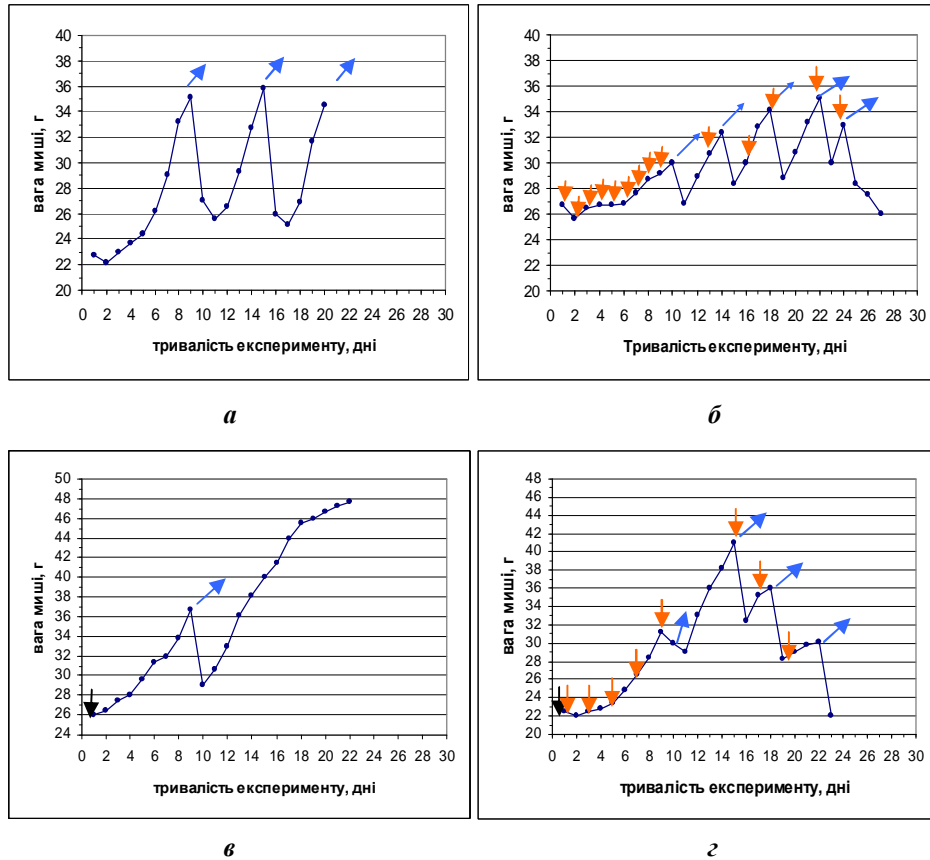


Рис. 2. Ріст асцитної лімфони NK/Ly в контролі (а, в), при ранньому щоденному введенні препарату (б) і при введенні з інтервалом 48 годин (г).
 Позначення: – внутрішньочеревні введення речовини, – дренування асциту.
 Інокуляція пухлинних клітин у день 0.

Таблиця 1

Вплив раннього введення сапогеніну чистотіду на проліферацію асцитних клітин NK/Ly (M±m)

Порядок дренажу	n	Об'єм асциту, мл	Концентрація клітин в асциті, млн/мл	Сумарна кількість клітин в асциті, млн
Дренаж 1, дослід	4	5,5±0,7	75±4*	407±33*
Дренаж 1, контроль	4	6,2±0,6	198±25	1180±39
Дренаж 2, дослід	4	9,7±1,4	79±4*	653±85*
Дренаж 2, контроль	4	7,8±0,9	199±32	1341±45

*різниця між дослідом і контролем достовірна (P<0,05).

При ранньому введенні досліджуваної речовини з інтервалом 48 годин криві росту пухлини в контролі та в досліді суттєво не відрізнялись. Кількість клітин в асциті при перших дренажах у досліді та в контролі статистично не відрізнялась, достовірне зменшення кількості клітин у дослідних мишей відзначали пізніше, при 3-му – 5-му дренажах, що може бути зумовлене кумуляцією речовини в організмі.

При пізньому початку введення сапогеніну дворазове введення препарату після дренажу асциту початково забезпечило тимчасову ремісію. Відновлення росту було зумовлене розвитком вузлів солідної лімфоми з утворенням асциту. Введення препарату сапогеніну в цьому стані було неефективним. Загалом у групі 20 мишей із пізнім введенням сапогеніну тривалість життя становила $25,6 \pm 2,2$ дні, у контрольній групі (10 мишей) – $22,7 \pm 1,5$ дні, різниця статистично недостовірна. Водночас із 20 лікованих мишей у 2 особин спостерігали повну ремісію після одноразового видалення асциту і введення сапогеніну чистотілу, 2 особини прожили більше 40 днів. Такий результат можна пояснити тільки індивідуальними особливостями тварин, їхньою природною резистентністю.

Цитологічні зміни при ранньому введенні сапогеніну чистотілу проявлялися достовірним збільшенням розмірів пухлинних клітин за всіма показниками (табл. 2). При забарвленні азур-еозином виявлено масове утворення пухирців на поверхні клітини (блебінг-феномен), що свідчить про її патологічний стан і практично не зустрічається в контролі (рис. 3, Б). Зміни ядер характеризувалися різноспрямованістю – конденсацією хроматину і зменшенням розмірів ядра, або збільшенням і фрагментацією ядер з утворенням багатоядерних клітин.

Таблиця 2

Вплив внутрішньочеревного введення сапогеніну чистотілу на цитоморфологічні характеристики клітин асцитної лімфоми NK/Ly

№ п/п	Цитологічні показники, $M \pm m$	n	Початкова стадія росту (7 – 8 днів, контроль)	n	Раннє введення, 9 щоденних введень	n	Пізнє введення, (5-10-й день, дренаж асциту)
1	Діаметр клітин, мкм	10	$13,6 \pm 0,3$	5	$16,5 \pm 0,3^*$	10	$14,6 \pm 0,2^*$
2	Відсоток клітин 18 мкм і більше	10	$6,3 \pm 0,5$	5	$29,8 \pm 2,3^*$	10	$13,2 \pm 2,8^*$
3	Відсоток пошкоджених клітин за даними забарвлення						
3а	Азур-еозином	10	$26,8 \pm 2,8$	5	$80,2 \pm 4,8^*$	8	$75,3 \pm 3,9^*$
3б	Бромфеноловим синім	10	$18,5 \pm 1,5$	5	$27,3 \pm 2,3$	8	$54,4 \pm 2,2^*$
3в	Гематоксиліном Деллафільда	10	$13,2 \pm 1,2$	5	$63,0 \pm 5,1^*$	8	$53,2 \pm 8,4^*$
3г	Нейтральним червоним	10	$15,8 \pm 1,8$	5	$59,3 \pm 5,4^*$	8	$59,0 \pm 5,1^*$
4	Відсоток клітин у популяції, які зв'язують лектини						
4а	Con A	4	$67,0 \pm 6,1$	4	$75,1 \pm 5,5$	4	$71,6 \pm 6,7$
4б	LCA	4	$13,6 \pm 1,1$	4	$45,0 \pm 5,2^*$	4	$40,0 \pm 5,0^*$
4в	PNA	4	$29,8 \pm 2,8$	4	$51,0 \pm 4,9^*$	4	$43,1 \pm 3,9^*$
4г	WGA	4	$81,8 \pm 3,6$	3	$87,0 \pm 5,7$	3	$83,2 \pm 5,4$

*різниця між дослідом і контролем достовірна ($P < 0,05$).

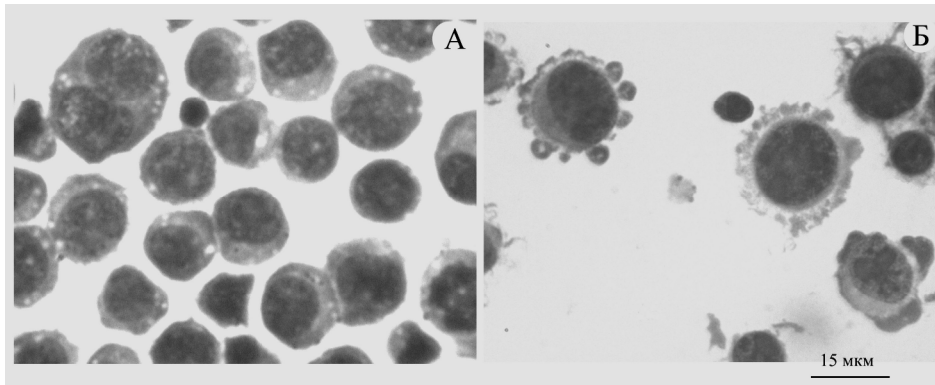


Рис. 3. Клітини асцитної лімфоми NK/Ly в контролі (А) і при введенні препарату сапогеніну чистотілу (Б). Забарвлення азур-еозином за Романовським-Гімза.

Кількісний аналіз цитоморфологічних змін при застосованих методах забарвлення виявив високодостовірне збільшення кількості пошкоджених пухлинних клітин порівняно з контролем при ранньому і пізньому введенні препарату сапогеніну (табл. 2). За результатами зв'язування лектинів виявлено достовірне збільшення кількості клітин, які взаємодіяли з лектинами сочевиці й арахісу. Для конканаваліну А і аглютиніну зародків пшениці достовірних змін у зв'язуванні не виявлено. Такий результат можна інтерпретувати як часткове десіалювання поверхневих вуглеводних детермінант клітин – О-гліканів при зв'язуванні лектину арахісу і N-гліканів при зв'язуванні лектину сочевиці. У випадку конканаваліну А і аглютиніну пшениці зміни не проявилися внаслідок високого вихідного рівня зв'язування цих лектинів.

На основі отриманих результатів дослідження речовини з властивостями сапогеніну із насіння чистотілу можна сформулювати такі висновки.

Отримана речовина нетоксична, проявляє слабо виражену протипухлинну активність щодо мишачої лімфоми NK/Ly. При ранньому (24 години після інюляції пухлини) щоденному введенні речовини відзначається пригнічення росту асциту і зменшення в ньому кількості пухлинних клітин у середньому на 58%. Цитоморфологічні зміни характеризуються достовірним збільшенням розмірів клітин і зростанням відсотка клітин із порушеною структурою. Ефект речовини нетривалий, краще виражений при щоденому введенні, ніж при більших часових проміжках.

При пізньому введенні (6–7 днів після інюляції) терапевтичний ефект речовини із властивостями сапогеніну статистично недостовірний, продовження життя окремих мишей-пухлиноносіїв спостерігається рідко і зумовлене швидше індивідуальними особливостями тварини, ніж дією речовини. Цитоморфологічні зміни подібні до таких при ранньому введенні препарату. Під впливом одержаної із чистотілу речовини спостерігається достовірне збільшення у порівнянні з контролем відсотка клітин NK/Ly, які зв'язують лектини сочевиці і арахісу.

Характерною особливістю сапогенінів є різноспрямованість їхнього впливу на пухлинні клітини, одним із аспектів їхньої дії є гальмування активності мембран-

ного Р-глікопротеїну, який здійснює АТФ-залежне виведення ксенобіотиків, у тому числі лікарських препаратів, із клітини і зумовлює неселективну резистентність клітин до ліків [11]. У зв'язку з цим доцільно дослідити сумісне застосування сапогеніну чистотілу із відомими протипухлинними хіміопрепаратами з метою потенціювання їхньої дії, відповідно, зменшення дози і побічного токсичного ефекту, характерного для цих препаратів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Балицкий К.П., Воронцова А.М.* Лекарственные растения и рак. – К., Наук. думка, 1982. – 376 с.
2. *Потопальский А.И.* Препараты чистотела в биологии и медицине. – К., Наук. думка, 1992. – 237 с.
3. *Мазнев Н.И.* Лечение ядовитыми растениями: чистотел, морозник и другие природные целители семьи. – М., ИКТИЦ ЛАДА, ООО ИД «Рипол классик». – 2005. – С. 61–63.
4. *Комендар В.І.* Лікарські рослини Карпат. Ужгород, Карпати. – 1971. – С. 47.
5. *Kwasniewski V.* Über die Auffindung eines Saponins im Schollkraute, *Chelidonium majus* // Archiv der Pharmazie. – 1958. – Bd. 291, N 4. – S. 209–211.
6. *Taborska E., Bochorakova H., Paulova H., Dostal J.* Separation of alkaloids in *Chelidonium majus* by reversed phase HPLC // Planta Med. – 1994. – V. 60. – P. 380–381.
7. *Taborska E., Bochorakova H., Dostal J., Paulova H.* The Greater celandine (*Chelidonium majus* L.) – a review of contemporary knowledge // Ces. a Slov. Farm. – 1995. – V. 44, N 2. – P. 71–75.
8. *Ovesna Z., Vachalkova A., Horvathova K., Tothova D.* Pentacyclic triterpenoic acids: a new chemoprotective compounds // Neoplasma. – 2004. – V. 51, N 5. – P. 327–333.
9. *Paduch R., Kandefer-Szerszen M., Trytek M., Fiedurek J.* Terpenes: substances useful in human healthcare // Arch. Immunol. Ther. Exp. – 2007. – V. 55. – P. 315–327.
10. *Zuco V., Supino R., Righetti S.C., Cleris L., Marchesi E., Gambacorti-Basserini C., Formelli F.* Selective cytotoxicity of betulonic acid on tumor cell lines, but not on normal cells // Cancer Lett. – 2002. – V. 175, N1, – P. 17–25.
11. *Dammarane saponins.* Novel nontoxic anti-cancer agents, 2007. Режим доступу http://j.b5z.net/i/w/2100778/i/Bi_Eng_May_2007.pdf
12. Panagin Pharmaceuticals Inc. Oral Bioavailability Enhancement Technology (OBET). Режим доступу <http://www.panagin.com>.
13. *Софьина З.П., Сыркин А.Б., Гольдин А., Кляйн А.* Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. – М., Медицина. 1980. – 295 с.
14. *Hacker G.W., Grimelius L., Danscher G., Bernatsky G., Muss W., Adam H., Thurner J.* Silver acetate autometallography: an alternative enhancement technique for immunogold-silver staining (IGSS) and silver amplification of gold, silver, mercury and zinc in tissues // J. Histochem. – 1988. – V. 11. – P. 213–221.
15. *Holgate C.S., Jackson P., Cowen P.N., Bird C.C.* Immunogold silver staining: new method of immunostaining with enhanced sensitivity // J. Histochem. Cytochem. – 1983. – V. 31. – P. 938–944.
16. *Geoghean W., Ackerman A.* Adsorption of horse radish peroxidase, ovomucoid, and anti-immunoglobulin to colloidal gold for the indirect detection of concanavalin A, WGA and immunoglobulin on cell surface on the electron microscopic level // J. Histochem. Cytochem. – 1977. – V. 25. – P. 1187–1200.

SUMMARY

Maxim LOOTSIK¹, Nataliya BOIKO¹, Maxim LUTSYK (Jr.)², Rostyslav STOIKА¹

PURIFICATION OF SAPOGENIN FROM SEEDS OF GREATER CELANDINE (*CHELIDONIUM MAJUS* L.) AND INVESTIGATION OF ITS INFLUENCE TOWARDS EXPERIMENTAL LYMPHOMA NK/Ly

¹*Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine
Drahomanov str., 14/16, 79005 Lviv, Ukraine*

²*Danylo Halysky Lviv National Medical University
Pekarska str., 79010 Lviv, Ukraine*

A substance that corresponds sapogenins according to their physico-chemical characteristics (lipophilicity, solubility in ethanol-water mixture, intensive foaming, positive Lieberman-Burchard reaction, hemolytic activity, negative tests for sugars, and phosphorus (phospholipids)) was obtained from seeds oil of Greater celandine (*Chelidonium majus* L.). Molecular mass of principal component of that substance according to mass-spectrometry analysis equaled 656 Da. Substance was non-toxic, and its intra-abdominal injection in dose 300 mg/kg did not cause animal death. The effect of studied substance upon growth of the ascitic form of mouse lymphoma NK/Ly and cytomorphology of tumor cells was studied in the in vivo experiments. Everyday injection of 1 mg of substance per mouse during 10 days beginning from the next day after inoculation of tumor cells led to a retardation of ascite growth and significant decrease of cell number. Cytomorphological analysis showed a marked deterioration of tumor cells and significant increase in cellular binding of lentil and peanut lectins. During the injections of substance every 48 hours or in case of late beginning (7 days after inoculation), the effect upon tumor growth was negligible, but cell damage and binding of lentil and peanut lectins were significantly higher then in control. The obtained results indicate a weak anti-tumor activity of sapogenin from the seeds of greater celandine and its non expedience as a sole anti-tumor drug. A possibility of its application as adjuvant compound in complex with active anti-tumor drugs is discussed.

Keywords: Greater celandine, sapogenins, anti-tumor activity, murine lymphoma NK/Ly.

РЕЗЮМЕ

Максим ЛУЦИК¹, Наталия БОЙКО¹, Максим ЛУЦИК (мл.)², Ростислав СТОЙКА¹

ОЧИСТКА САПОГЕНИНА ИЗ СЕМЯН ЧИСТОТЕЛА (*CHELIDONIUM MAJUS* L.) И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО ВЛИЯНИЯ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ЛИМФОМУ NK/LY

¹*Институт биологии клетки НАН Украины
ул. Драгоманова, 14/16, 79005 Львов, Украина*

²*Львовський національний медичинський університет ім. Данилы Галицького
ул. Пекарська, 69, 79010 Львов, Украина*

Из масла семян чистотела (*Chelidonium majus* L.) выделено вещество, соответствующее сапогенинам по физико-химическим свойствам, а именно: липофильность, растворимость в водном этаноле, интенсивное пенообразование, позитивная реакция Либермана-Бурхарда, гемолитическое действие, отсутствие углеводов и фосфора (фосфолипидов). Молекулярная масса основного компонента в препаратах по данным масс-спектрометрии составляет 656 Да. Вещество нетоксично, при внутрибрюшинном введении мышам в дозе 300 мг/кг не вызывало гибели животных. В экспериментах in vivo изучено влияние вещества на рост асцитной формы лимфомы NK/Ly мышей и цитоморфологию опухолевых клеток. При ежедневном введении вещества по 1 мг на протяжении 10 дней начиная со следующего дня после инокуляции опухолевых клеток, была отмечена задержка роста асцита и досто-

верное уменьшение количества опухолевых клеток в нем. По данным цитоморфологического анализа вещество вызывало существенное повреждение опухолевых клеток и достоверное повышение связывания лектинов чечевицы и арахиса. При введении вещества с интервалом 48 ч, а также при позднем введении (через 7 суток после инокуляции) влияние на рост опухолей было слабо выражено, однако повреждение клеток и связывание лектинов чечевицы и арахиса было достоверно выше, чем в контроле. Результаты свидетельствуют о слабо выраженном противоопухолевом действии сапогенина семян чистотела и нецелесообразность его использования как самостоятельного химиопрепарата. Обсуждается возможность его использования как адьюванта в комплексе с активными противоопухолевыми препаратами.

Ключевые слова: чистотел, сапогенин, противоопухолевая активность, лимфома НК/Лу.

Надійшла 26.09.2011.
Прийнята до друку 12.10.2011.