

# ГИДРОЛИЗУЕМЫЕ ГАЛЛО-ЭЛЛАГО-ТАННИНЫ КИПРЕЯ УЗКОЛИСТНОГО (*CHAMAENERION ANGUSTIFOLIUM* (L.)) ИЗ БИОКОЛЛЕКЦИИ ПИТОМНИКА БОТАНИЧЕСКОГО САДА ФГБНУ ВИЛАР – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

**С.А. Сасов**

к.х.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория химического синтеза,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**Н.Н. Тотоева**

вед. инженер-лаборант, лаборатория химического синтеза,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**В.Н. Толкачев**

вед. науч. сотрудник, лаборатория химического синтеза,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**Т.А. Алиева**

лаборант, лаборатория химического синтеза,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**Е.Н. Бедрина**

науч. сотрудник, лаборатория химического синтеза,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**О.Н. Толкачев**

д.х.н., отдел фитохимии, ФГБНУ ВИЛАР (Москва)  
E-mail: vilarnii@mail.ru

**В.А. Мисюрин**

к.б.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной диагностики и биохимии опухолей,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**Л.А. Кесаева**

лаборант-исследователь, лаборатория рекомбинантных опухолевых антигенов,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия (Москва)

**Ю.П. Финашутина**

науч. сотрудник, лаборатория рекомбинантных опухолевых антигенов,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**Н.А. Лыжко**

лаборант-исследователь, лаборатория рекомбинантных опухолевых антигенов,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**А.В. Мисюрин**

д.б.н., зав. лабораторией рекомбинантных опухолевых антигенов,  
НИИ ЭДИТО ФГБУ «ИМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва)

**В.Ю. Масляков**

к.г.н., зав. отделом растительных ресурсов, зам. руководителя Центра растениеводства, ФГБНУ ВИЛАР (Москва)  
E-mail: maslyakoff@mail.ru

**Н.Б. Фадеев**

ст. науч. сотрудник, отдел природных растительных ресурсов, ФГБНУ ВИЛАР (Москва)  
E-mail: nfadeev@mail.ru

Проведен поиск новых отечественных препаратов в ряду олигомерных гидролизуемых галло-эллаго-таннинов, полученных из кипрея узколистного *Chamaenerion angustifolium* (L.), для профилактики и лечения онкологических заболеваний. Изучены химический состав таннинов соцветий и побегов кипрея узколистного, а также противоопухолевая и иммуномодулирующая активность димерных и тримерных таннинов. Разработана технология выделения димерного галло-эллаго-таннина хаменерина I. Показана перспективность использования димерных таннинов для стимулирования В-клеточного ответа на белок PRAME.

**Ключевые слова:** кипрей узколистный, *Chamaenerion angustifolium* (L.), олигомерные галло-эллаго-таннины, Ханерол, хаменерины I, II, III, иммунизация белком PRAME.

**Для цитирования:** Сасов С.А., Тотоева Н.Н., Толкачев В.Н., Алиева Т.А., Бедрина Е.Н., Толкачев О.Н., Мисюрин В.А., Кесаева Л.А., Финашутина Ю.П., Лыжко Н.А., Мисюрин А.В., Масляков В.Ю., Фадеев Н.Б. Гидролизуемые галло-эллаго-таннины кипрея узколистного (*Chamaenerion angustifolium* (L.)) из биоколлекции питомника ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР – перспективный источник для получения цитотоксических средств. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(1):28–34. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-01-04>

Разработан препарат на основе биологически активных соединений из кипрея узколистного (*Chamaenerion angustifolium* (L.)) – иван-чая, обладающего противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью, относящегося к семейству кипрейных (Oenotheraceae), заготовленного на территории России. Кипрей узколистный широко используется в традиционной медицине, а также как пищевое и кормовое растение. Иван-чай является богатым источником различных биологически активных соединений: полифенолов, терпеноидов, витаминов, гликозидов, органических кислот, микро- и макроэлементов и других веществ. Большой интерес к этому растению отражен в ряде обстоятельных российских и зарубежных обзоров [1–5].

В лаборатории химического синтеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» проведены обстоятельные химические и аналитические исследования активных фракций из этого растения. Растительные образцы для исследований заготовлены в ФГБНУ ВИЛАР. На основе гидролизуемых галло-эллаго-таннинов кипрея узколистного разработан противоопухолевый препарат «Ханерол», подавляющий рост экспериментальных опухолей: аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ (81%), карциномы молочной железы Са-755 (97%), саркомы S-37 (75%), карциномы легких Льюис LLC (65%) и др. [6–11]. Имеется предположение, что противоопухолевая активность таннинов связана с антиметаболическим действием соединений, а также с их иммуномодулирующим эффектом [4].

В лаборатории биомаркеров и механизмов опухолевого ангиогенеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина было показано, что димерный макроциклический таннин специфически ингибировал миграцию эндотелиальных клеток мыши SVEC 4-10 и образование сосудоподобных структур *in vitro*. Гистоморфологические и иммуногистохимические данные *Ch. angustifolium* (L.) свидетельствуют о том, что димерный таннин уменьшает количество CD31-положительных клеток ( $p < 0,05$ ) и LEL-положительных клеток микрососудов ( $p < 0,05$ ) в тканях опухолей и экспрессию VEGF в ткани опухоли. Таким образом, димерный макроциклический таннин является перспективным антиангиогенным агентом [12].

Выделение биологически активных полифенолов из соцветий иван-чая, заготовленного на территории Московской области, проводили в фазу цветения экстракцией гидрофильных субстан-

ций, селективным фракционированием фракций, обладающих цитотоксической активностью, с применением хроматографических методов разделения и очистки на Сефадексе LH-20. В результате были выделены димерный, тримерный и тетрамерный таннины, названные хаменерины I, II и III, среди которых наиболее активна фракция димерных галло-эллаго-таннинов. Разработанный на их основе препарат «Ханерол» прошел всесторонние биологические исследования в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Идентификация индивидуальных соединений проводилась с использованием физико-химических методов анализа (УФ-, ИК-, масс-,  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры) и сравнением хроматографической подвижности с известными образцами гидролизуемых галло-эллаго-таннинов, а также применением новых методических приемов съемки  $^1\text{H}$  ЯМР спектров [13].

Полученный индивидуальный димерный галло-эллаго-таннин хаменерин I был изучен в качестве адъюванта при иммунизации белком PRAME. Гидролизуемые галло-эллаго-таннины склонны к связыванию с белковыми молекулами и образованию супрамолекулярных ассоциатов с другой изоэлектрической точкой, а также растворимостью. Данные особенности могут быть полезными при иммунизации с целью выработки В-клеточного ответа против целевого белка [14].

Развитие гуморального ответа играет важную роль в защите организма от патогенов и противоопухолевом ответе. В настоящее время в лечении онкологических заболеваний используют моноклональные лекарственные антитела, такие как ритуксимаб и трастузумаб. При этом возможности по разработке новых терапевтических антител не исчерпаны. Перспективной мишенью для таргетной терапии является белок PRAME, экспонированный на поверхность опухолевой клетки, и не эспрессирующийся в нормальных клетках [15–16]. Согласно результатам двух масштабных исследований, даже у PRAME-экспрессирующих больных онкогематологическими заболеваниями не развиваются собственные антитела к данному белку [17–18]. Учитывая, что белок PRAME активен приблизительно у 50% онкологических больных, можно предположить, что В-клеточный иммунный ответ больного может быть не менее эффективным, чем применение современных таргетных препаратов [19]. Возможно, применение галло-эллаго-таннинов в качестве компонента вакцинной композиции для иммунизации поможет сформиро-

ваться В-клеточному ответу против белка PRAME. В этом случае противоопухолевая терапия будет более эффективной.

**Ц е л ь р а б о т ы** – изучение химического состава, противоопухолевой и иммуномодулирующей активности димерных и тримерных таннинов в ряду олигомерных гидролизуемых галлоэллаго-таннинов, полученных из кипрея узколистного с целью поиска новых отечественных противоонкологических препаратов.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Олигомерные гидролизуемые таннины получали из соцветий и побегов кипрея узколистного, заготовленных в Московской области (место первого сбора – Ботанический сад ФГБНУ ВИЛАР, вырубка на регионе Сибирь 5–10 мая 2017 г., второй сбор проводился в фазе цветения 9–14 июля 2017 г. в окрестностях д. Митинское Шатурского р-на Московской области). Облиственные верхушки побегов (трава) заготавливались в фазу вегетации до цветения (10 июня) в Заокском районе Тульской области и в течение 1 ч направлялись на сушку с естественной вентиляцией при 20–25 °С.

Соединения получены с использованием колоночной хроматографии на сефадексе LH-20 [6–8]. Удельное вращение измеряли на поляриметре «Unipol L» («Schmidt + Haensch», Германия). Чистоту полученных соединений и содержание примесей определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu (Япония). Колонка Kromasil («Akzo-Nobel», Швеция) C-18,5 мкм, 250×4 мм при длине волны 263 нм в системе ацетонитрил и 0,04% (по объему) муравьиная кислота. Элюцию проводили в изократическом режиме. Структура хаменерина I подтверждена данными продуктов его полного и частичного кислотного гидролиза и спектральными методами [6]. Спектры <sup>1</sup>H ЯМР хаменерина I были записаны на приборе Avance Bruker DRX-500 МГц (Германия) с программным обеспечением.

Масс-спектры высокого разрешения были получены на приборе Bruker micrOTOF II (Германия) методом электрораспылительной ионизации (ESI). Измерения выполнены на положительных (напряжение на капилляре – 4500 V) или отрицательных (напряжение на капилляре 3200 V) ионах. Диапазон сканирования масс – m/z 50–3000 Да, калибровка – внешняя или внутренняя (Electrospray Calibrant Solution, Fluka).

**Биологическое исследование.** Для проверки возможности применения таннинов в качестве адьюванта проведены эксперименты по иммунизации 21 мыши. Для сравнения были составлены следующие композиции: а) 25 мкг хаменерин I + PRAME; б) 25 мкг хаменерин II + PRAME; в) 25 мкг хаменерин III + PRAME; г) 25 мкг суммы высших олигомерных таннинов кипрея узколистного + PRAME; д) Al(OH)<sub>3</sub> + PRAME, используемая в качестве положительного контроля традиционного адьюванта и присутствия антигена; е) чистый белок PRAME, используемый в качестве положительного контроля присутствия антигена; ж) отрицательный контроль без иммунизации.

Каждую композицию вводили мышам линии Black. Общий объем композиции, приготовленной для введения, составлял 500 мкл. Введение производили подкожно 3 раза с интервалом в 2 недели. Концентрация белка PRAME в каждом введении составляла 50 мкг. После третьего введения композиции мышам было собрано не менее 500 мкл крови.

Заготовленную кровь использовали для получения сывороток, содержащих смесь иммуноглобулинов мышей, которые тестировали на наличие антител, связывающихся с белком PRAME. Эффективность развития В-клеточного ответа против белка PRAME оценивали на проточном цитометре ACEA NovoCyte («ACEA Biosciences», США). В качестве мишени для связывания сывороточных антител использовали PRAME-экспрессирующую линию клеток K562 [16].

Перед проведением эксперимента клетки K562 отмывали от культуральной среды и пермеабелизовали 96%-ным метанолом при 0 °С, повторно отмывали от метанола в PBS-буфера, после чего 2×10<sup>5</sup> клеток K562 инкубировали в 100 мкл мышинной сыворотки. Время инкубирования составило 30 мин, затем производили отмывку от сыворотки при помощи PBS-буфера. Далее к клеткам добавляли FITC-меченые антимишинные антитела («Becton Dickinson», США), и инкубировали в течение 30 мин в темноте, после чего вторичные антитела также отмывали раствором PBS-буфера.

Яркость свечения окрашенных клеток (В-клеточный ответ) оценивали на проточном цитометре. В качестве негативного контроля использовали уровень сигнала от клеток, окрашенных сывороткой мышей, ничем не иммунизированных.

Сравнение групп по величине В-клеточного ответа использовали U-критерий Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Методы получения димерного макроциклического танина из кипрея узколистного.** Способ получения активной фракции полифенольных соединений из побегов кипрея узколистного, достигшего 4–50 см роста, включал в себя экстракцию растительного сырья 25%-ным водным раствором диметилформаида, упаривание, дробное осаждение полифенольного комплекса 20%-ным раствором ацетата свинца, промывку свинцового комплекса, его дробное разложение и обессоливание на колонке с катионитом КУ-2-8-чС ( $H^+$ ), упаривание и лиофильную сушку полученного раствора. Выход полифенольного комплекса составлял 3–5% от веса исходного растительного сырья. Границы осаждения и разложения свинцового комплекса были ранее определены на основании данных противоопухолевой активности выделяемых веществ и частично их физико-химических параметров.

Фракционированием полифенольного комплекса на колонке с сефадексом LH-20 выделяли фракции целевых димерных и тримерных танинов под химическим и биологическим контролем. Элюирование проводили 20%-ным водным

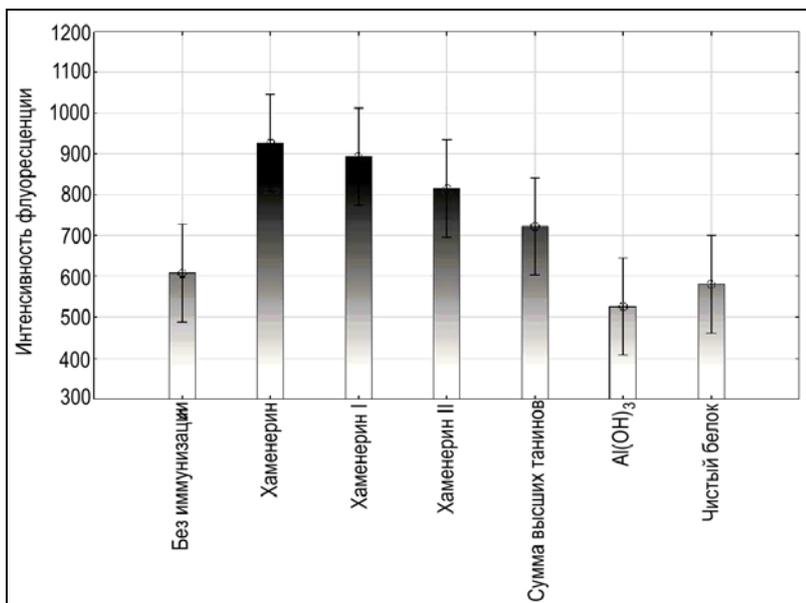
спиртом и водным ацетоном в возрастающей концентрации. Выход целевой субстанции составил до 3% от веса исходного растительного сырья. Аналогично получали активную фракцию полифенолов из соцветий кипрея узколистного.

При дальнейшем элюировании колонки 40%-ным водным ацетоном выделены фракции тримерных гидролизуемых танинов, также обладающие противоопухолевой активностью.

Структура хаменерина I установлена на основании УФ-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии. Соединение является гидролизуемым галло-эллаго-таннином состава  $C_{68}H_{48}O_{44}$ , образующим специфичное синее окрашивание с раствором хлорного железа. УФ-спектр имеет максимумы поглощения при 215 и 263 нм. Его ИК-спектр содержит все характеристические частоты, присущие структуре хаменерина I, соответствующие гидроксильным группам фенолов, сложноэфирным связям и углеводным фрагментам [20].

В масс-спектре хаменерина I присутствуют ионы ( $m/z$ ) 1567 [M-H]<sup>-</sup>; 1591 [M+Na]<sup>+</sup>. Полученные результаты подтверждают идентификацию образца димерного макроциклического гидролизуемого танина с энотеином В.

**Результаты биологического исследования.** Согласно результатам проведения проточной цитометрии, антитела, содержащиеся в сыворотках мышей, окрашивали клетки K562 с разной интенсивностью. Интенсивность окрашивания кле-



Интенсивность В-клеточного ответа против белка PRAME у мышей, получивших танины I – III и сумму высших танинов в качестве адъюванта (в формуле на рис нижний индекс  $Al(OH)_3$ , можно также  $\times 10^2$  по ординате)

ток линии K562 была наибольшей при использовании сывороток, полученных от мышей, иммунизированных димерным и тримерным галло-эллаго-таннинами (хаменерином I и хаменерином II). Сыворотка, полученная от мышей, иммунизированных с хаменерином I, окрасила клетки более интенсивно, чем сыворотка контрольных мышей ( $p = 0,0282$ ). Сыворотка, полученная от мышей, иммунизированных хаменерином II, окрасила клетки интенсивнее, чем в контроле, но различия имели тенденцию к достоверности ( $p = 0,0933$ ). Остальные данные значимо не повлияли ( $p > 0,1$ ) на результаты эксперимента (рисунок).

Таким образом, изучен химический состав активной фракции галло-эллаго-таннинов, выделенных из соцветий и побегов кипрея узколистного.

Разработана технология выделения димерного галло-эллаго-таннина хаменерина I из соцветий и побегов кипрея узколистного. Идентификацию димерного макроциклического таннина с применением новых методических приемов съемки <sup>1</sup>H ЯМР спектров при низких температурах и использованием специфических растворителей позволили получать четкие спектры высокого разрешения сигналов в области 8–12 м.д. Показана перспективность использования димерных таннинов в качестве адьювантов для стимулирования В-клеточного ответа при иммунизации белками.

## ВЫВОДЫ

1. Разработана технология получения очищенного димерного таннина хаменерина I из соцветий и побегов кипрея узколистного. Препарат ханерол на основе димерного таннина содержит примеси тримерных и высших олигомерных таннинов. В процессе изучения биологической активности показано, что наиболее выраженный В-клеточный ответ у мышей против белка PRAME был достигнут при применении димерного и тримерного галло-эллаготаннинов в качестве адьюванта для иммунизации.
2. Метод выделения олигомерных гидролизующих макроциклических таннинов позволяет получать очищенные соединения для проведения доклинических исследований в необходимых количествах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бушуева Г.Р., Сыроешкин А.В., Максимова Т.В., Скальный А.В. Кипрей узколистный – перспективный источник химического состава биологически активных соединений // Микроэлементы в медицине. 2016;17(2):15–23.
2. Царев В.Н., Базарнова Н.Г., Дубенский М.М. Кипрей узколистный (*Chamerion angustifolium* L.) химический состав, биологическая активность (обзор) // Химия растительного сырья. 2016; 4:15–26.
3. Schepetkin I.A., Rumstead A.S., Kirpotina L.N., Voyich J.M., Jutiala M.A., Quina M.T. Therapeutic Potential of Polyphenols from *Epilobium angustifolium* (Fireweed) // Phytotherapy Research. 2016;30:1287–97.
4. Yoshimura M., Akiyama H., Kondo K., Sakata K., Matsuoka H., Amakura J., Teshima R., Joshida J. Immunological Effects of Oenothien B, an Ellagitannin Dimer, on Dendritic Cells // Int. J. Mol. Sci. 2013(1); 14: 46–56.
5. Полежаева И.В., Полежаева Н.И., Меняйло Н.И., Левданский В.А. Изучение экстрактивных веществ *Chamerion angustifolium* (L.) Holub. // Химия растительного сырья. 2005;1:25–29.

6. Сасов С.А., Толкачев В.Н., Ярцева И.В., Толкачев О.Н. Макроциклические таннины кипрея узколистного // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010;10:24–29.
7. Петрова М.Ф., Пухальская Е.Ч., Постольников С.Ф., Сыркин А.Б., Гарин А.М., Сасов С.А., Кикоть Б.С., Краснова М.А., Лопатин П.И., Гзовская О.Н., Бухарова И.К., Юшков С.Ф. Оригинальный противоопухолевый препарат – ханерол. Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей // Материалы Всесоюзного совещания. Черноголовка. 1980;1:210–212.
8. Sasov S.A., Gerasimova G.K., Totoeva N.N., Tolkahev V.N., Shipulina L.D., Sheichenko O.P., Sheichenko V.I., Tolkahev O.N. Biologically active natural complexes of polyphenol compounds // Second international symposium on chemistry of natural compounds. Eskisehir. Turkey. 1996; Oct. 22–24. PL 4.
9. Shipulina L.D., Vichkanova S.A., Yamnikova E.V., Sheichenko O.P., Tolkahev O.N., Sasov S.A., Tolkahev V.N., Gerasimova G.K. Plant antiviral and antitumor agents study. 8<sup>th</sup> NSI-EORTC (Natural Cancer Institute) // European Organization for Research and Treatment of Cancer. Symposium on new drugs in cancer therapy. Amsterdam. 1994. March 15–18. Ref. 114. P. 97.
10. Сасов С.А., Томоева Н.Н., Шипулина Л.Д., Сыркин А.Б., Толкачев В.Н. Исследование полифенольных веществ кипрея узколистного // Тезисы докладов Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты» / Чебоксары. 1996. Май 19–23. Ч. 1. С. 97–98.
11. Shipulina L.D., Sasov S.A., Tolkahev V.N. Antiviral tannin complex from *Chamaenerium angustifolium*. Progress in clinical virology. Prague. 1995. September 10–14. BP/67.
12. Khochenkov D., Peretolchinf N., Sasov S., Tolkahev V., Lichinister M., Stepanova E. Naturally occurred dimeric macrocyclic tannin as a potential antiangiogenic agent // Angiogen. 2014;17(3):61.
13. Santos S.C., Carvalho A.G., Fortes G.A., Ferri P.H., de Oliveira A.E. Variable – Temperature NMR and conformational analysis of Oenothien B. J. // Braz. Chem. Soc. 2014;25(2):282–89.
14. Francus T. Plant polyphenolic-protein conjugates activate murine spleen cells and bind to multiple cell surface components. Proc Soc Exp Biol Med. 1994; 207(1):117–26.
15. Лыжко Н.А., Мисюрин В.А., Финашутина Ю.П., Ахлынина Т.В., Кесаева Л.А., Тихонова В.В., Касаткина Н.Н., Солопова О.Н., Барышникова М.А., Мисюрин А.В. Проявление цитостатического эффекта моноклональных антител к белку PRAME // Российский биотерапевтический журнал. 2016;15(4):53–58.
16. Gerber J.M., Qin L., Kowalski J., Smith B.D., Griffin C.A., Vala M.S., Collector M.I., Perkins B., Zihurak M., Matsui W., Gocke .D., Sharkis S.J., Levitsky H.I., Jones R.J. Characterization of chronic myeloid leukemia stem cells // Am J Hematol. 2011 Jan; 86(1): 31–7.
17. Luetkens T., Schafhausen P., Uhlich F., Stache T., Akbulak R., Bartels K., Lajmi N., Cao Y., Kroger M., Bokemeyer C., Brummendorf T.H., Atanackovic D. Expression, epigenetic regulation, and humoral immunogenicity of cancer-testis an-

- tigens in chronic myeloid leukemia // *Leuk Res.* 2010; 34(12):1647–55.
18. *Luetkens T., Kobold S., Cao Y., Ristic M., Schilling G., Tams S., Bartels B.M., Templin J., Bsrtels K., Hildebrandt Y., Yousef S., Marks A., Haag F., Bokemeyer C., Kroger N., Atanackovic D.* Functional autoantibodies against SSX-2 and NY-ESO-1 in multiple myeloma patients after allogeneic stem cell transplantation // *Cancer Immunol Immunother.* 2014;63(11):1151–62. DOI: 10.1007/s00262-014-1588-x. PMID: 25078248.
19. *Yao J., Caballero O.L., Yung W.K., Weinstein J.N., Riggins G.J., Strausberg R.L., Zhao Q.* Tumor subtype-specific cancer-testis antigens as potential biomarkers and immunotherapeutic targets for cancers // *Cancer Immunol Res.* 2014; 2(4):371–79.
20. *Шпрых З.С., Игнатъева Е.В., Ярцева И.В., Сасов С.А., Орлова О.З., Полозкова А.П., Хоченков Д.А., Королев А.М., Малютина И.М.* Стандартизация лиофилизированной лекарственной формы димерного макроциклического таннина // *Российский биотерапевтический журнал.* 2017. Т. 16(4). С. 67–73.

Поступила 7 сентября 2018 г.

## HYDROLIZABLE GALLO-ELLAGI-TANNINS OF *CHAMAENERION ANGUSTIFOLIUM* (L.) ARE PROSPECTING CYTOTOXIC SOURCES FOR USE IN ONCOLOGY

© Authors, 2019

**S.A. Sasov**

Ph.D. (Chem.), Senior Research Scientist, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**N.N. Totoeva**

Leading Laboratory Engineer, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**V.N. Tolkachev**

Leading Research Scientist, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**T.A. Alieva**

Laboratory Assistant, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**E.N. Bedrina**

Research Scientist, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**O.N. Tolkachev**

Dr.Sc. (Chem.), All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

E-mail: vilarnii@mail.ru

**V.A. Misyurin**

Ph.D. (Biol.), Senior Research Scientist, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**L.A. Kesaeva**

Research Assistant, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**Yu.P. Finashutina**

Research Scientist, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**N.A. Lyzhko**

Research Assistant, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**A.V. Misyurin**

Dr.Sc. (Biol.), N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow)

**V.Yu. Maslyakov**

Ph.D. (Geogr.), All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

E-mail: maslyakoff@mail.ru

**N.B. Fadeev**

Senior Research Scientist, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

E-mail: nfadeev@mail.ru

There was studied new domestic phytodrug from *Chamaenerion angustifolium* (L.) as the source for prophylaxis and treatment of oncological diseases containing oligomeric hydrolyzing gallo-ellagi-tannins. Isolation and the chemical composition study of anti-tumor and immune-modulatory activity of dimeric and trimeric tannins from *Chamaenerion angustifolium* (L.) were carried out using selective extraction and chromatographic separation methods of polyphenols. Flow cytometry was used for evaluation of B cell response after mice immunization. PRAME-expressed cell line K562 was used as substrate. Chemical composition of gallo-ellagi-tannins from flowers and shoots were studied. Technologic method of dimeric gallo-ellagi-tannins chamenerin I production plants was worked out. Possibility of dimeric tannins use to stimulate B cell response was proposed.

**Key words:** *Chamaenerion angustifolium* (L.), oligomeric gallo-ellagi-tannins, chamenerin I, immunization with PRAME protein.

**For citation:** Sasov S.A., Totoeva N.N., Tolkachev V.N., Alieva T.A., Bedrina E.N., Tolkachev O.N., Misyurin V.A., Kesaeva L.A., Finashutina Yu.P., Lyzhko N.A., Misyurin A.V., Maslyakov V.Yu., Fadeev N.B. Hydrolyzable Gallo-ellagi-tannins of *Chamaenerion angustifolium* (L.) are prospecting cytotoxic sources for use in oncology. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(1):28–34. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-01-04>

## REFERENCES

- Bushueva G.R., Syroeshkin A.V., Maksimova T.V., Skalny A.V. Kiprej uzkolistnyj – perspektivnyj istochnik himicheskogo sostava biologicheskij aktivnyh soedinenij // Mikroelementy v medicine. 2016;17(2):15–23.
- Carev V.N., Bazarnova N.G., Dubenskij M.M. Kiprej uzkolistnyj (Chamerion angustifolium L.) himicheskij sostav, biologicheskaya aktivnost' (obzor) // Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2016; 4:15–26.
- Schepetkin I.A., Rumstead A.S., Kirpotina L.N., Voyich J.M., Jutiala M.A., Quina M.T. Therapeutic Potential of Polyphenols from *Epilobium angustifolium* (Fireweed) // Phytotherapy Research. 2016; 30:1287–97.
- Yoshimura M., Akiyama H., Kondo K., Sakata K., Matsuoka H., Amakura J., Teshima R., Joshida J. Immunological Effects of Oenonein B, an Ellagitannin Dimer, on Dendritic Cells // Int. J. Mol. Sci. 2013(1); 14: 46–56.
- Polezhaeva I.V., Polezhaeva N.I., Menyajlo N.I., Levdanskiy V.A. Izuchenie ehkstraktivnyh veshchestv Chamerion angustifolium (L.) Holub. // Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2005;1:25–29.
- Sasov S.A., Tolkachev V.N., Yarceva I.V., Tolkachev O.N. Makrociklicheskie tanniny kipreya uzkolistnogo // Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii. 2010;10:24–29.
- Petrova M.F., Puhalskaya E.CH., Postol'nikov S.F., Syrkmn A.B., Garin A.M., Sasov S.A., Kikot' B.S., Krasnova M.A., Lopatin P.I., Gzovskaya O.N., Buharova I.K., Yushkov S.F. Original'nyj protivopuholevyj preparat – hanerol. Aktual'nye problemy ehksperimental'noj himioterapii opuholej // Materialy Vsesoyuznogo soveshchaniya. Chernogolovka. 1980;1:210–212.
- Sasov S.A., Gerasimova G.K., Totoeva N.N., Tolkachev V.N., Shipulina L.D., Sheichenko O.P., Sheichenko V.I., Tolkachev O.N. Biologically active natural complexes of polyphenol compounds // Second international symposium on chemistry of natural compounds. Eskisehir. Turkey. 1996; Oct. 22–24. PL 4.
- Shipulina L.D., Vichkanova S.A., Yammnikova E.V., Sheichenko O.P., Tolkachev O.N., Sasov S.A., Tolkachev V.N., Gerasimova G.K. Plant antiviral and antitumor agents study. 8<sup>th</sup> NSI-EORTC (Natural Cancer Institute) // European Organization for Research and Treatment of Cancer. Symposium on new drugs in cancer therapy. Amsterdam. 1994. March 15–18. Ref. 114. P. 97.
- Sasov S.A., Totoeva N.N., Shipulina L.D., Syrkin A.B., Tolkachev V.N. Issledovanie polifenol'nyh veshchestv kipreya uzkolistnogo // Tezisy dokladov Vtorogo nauchnogo kongressa «Tradicionnaya medicina: teoreticheskie i prakticheskie aspekty» / Cheboksary. 1996. Maj 19–23. Ch. 1. S. 97–98.
- Shipulina L.D., Sasov S.A., Tolkachev V.N. Antiviral tannin complex from *Chamaenerion angustifolium*. Progress in clinical virology. Prague. 1995. September 10–14. BP/67.
- Khochenkov D., Peretolchinf N., Sasov S., Tolkachev V., Lichinister M., Stepanova E. Naturally occurred dimeric macrocyclic tannin as a potential antiangiogenic agent // Angiogen. 2014;17(3):61.
- Santos S.C., Carvalho A.G., Fortes G.A., Ferri P.H., de Oliveira A.E. Variable – Temperature NMR and conformational analysis of Oenonein B. J. // Braz. Chem. Soc. 2014;25(2):282–89.
- Francus T. Plant polyphenolic-protein conjugates activate murine spleen cells and bind to multiple cell surface components. Proc Soc Exp Biol Med. 1994; 207(1):117–26.
- Lyzhko N.A., Misyurin V.A., Finashutina YU.P., Ahlylina T.V., Kesaeva L.A., Tihonova V.V., Kasatkina N.N., Solopova O.N., Baryshnikova M.A., Misyurin A.V. Proyavlenie citostaticheskogo ehffekta monoklona'lyh antitel k belku PRAME // Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2016;15(4):53–58.
- Gerber J.M., Qin L., Kowalski J., Smith B.D., Griffin C.A., Vala M.S., Collector M.I., Perkins B., Zihurak M., Matsui W., Gocke D., Sharkis S.J., Levitsky H.I., Jones R.J. Characterization of chronic myeloid leukemia stem cells // Am J Hematol. 2011 Jan; 86(1): 31–7.
- Luetkens T., Schafhausen P., Uhlich F., Stache T., Akbulak R., Bartels K., Lajmi N., Cao Y., Kroger M., Bokemeyer C., Brummendorf T.H., Atanackovic D. Expression, epigenetic regulation, and humoral immunogenicity of cancer-testis antigens in chronic myeloid leukemia // Leuk Res. 2010; 34(12):1647–55.
- Luetkens T., Kobold S., Cao Y., Ristic M., Schilling G., Tams S., Bartels B.M., Templin J., Bstels K., Hildebrandt Y., Yousef S., Marks A., Haag F., Bokemeyer C., Kroger N., Atanackovic D. Functional autoantibodies against SSX-2 and NY-ESO-1 in multiple myeloma patients after allogeneic stem cell transplantation // Cancer Immunol Immunother. 2014;63(11):1151–62. DOI: 10.1007/s00262-014-1588-x. PMID: 25078248.
- Yao J., Caballero O.L., Yung W.K., Weinstein J.N., Riggins G.J., Strausberg R.L., Zhao Q. Tumor subtype-specific cancer-testis antigens as potential biomarkers and immunotherapeutic targets for cancers // Cancer Immunol Res. 2014; 2(4):371–79.
- Shprah Z.S., Ignat'eva E.V., Yarceva I.V., Sasov S.A., Orlova O.Z., Polozkova A.P., Hochenkov D.A., Korolev A.M., Maljutina I.M. Standartizaciya liofilizirovannoj lekarstvennojformy dimernogo makrociklicheskogo tannina // Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2017. T. 16(4). S. 67–73.