

**П.Г. Алексюк**  
**ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБНОСТИ САПОНИНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КОРНЯ РАСТЕНИЯ**  
***ALLOCHRUSA GYPSOPHILOIDES* ФОРМИРОВАТЬ ISCOMATRIX**  
(Институт микробиологии и вирусологии, Алматы)

Проводились исследования с целью определения комплексобразующей способности сапонинов, выделенных из корней растения *Allochrusa gypsophiloides*. По результатам исследований было установлено, что сапонины растения *Allochrusa gypsophiloides* обладают способностью формировать ISCOMATRIX, схожие по строению с комплексами, полученными при использовании коммерческого сапонины Квил А.

Инфекционные заболевания по-прежнему остаются одной из основных бед человечества, нанося огромный экономический ущерб сельскому хозяйству и непосредственно угрожая жизни и здоровью человека. Наиболее эффективным и действенным методом профилактики инфекционных заболеваний остаётся вакцинация, при условии, что она проводится именно против ожидаемого инфекционного агента [1]. Главной задачей при вакцинации является создание высокого уровня, длительного, антигенспецифического, иммунного ответа. Для достижения данной задачи в современной стратегии создания вакцинных препаратов, используются адъюванты – соединения способные стимулировать высокий уровень специфического защитного иммунитета при их совместном введении с антигенами [2]. Одним из наиболее перспективных адъювантов является ISCOMATRIX обладающий высокой иммуностимулирующей активностью [3]. ISCOMATRIX представляет собой надмолекулярный комплекс, состоящий из тритерпеновых сапонинов, холестерина и фосфолипидов [4]. В настоящее время для создания ISCOMATRIX используется тритерпеновый сапонин Квил выделенный из коры южноамериканского дерева *Quillaja saponaria*. Но высокая гемолитическая активность делает его достаточно токсичным препаратом, а также малая доступность и высокая стоимость сырья оставляет актуальным поиск новых растительных сапонинов, которые можно будет использовать как эффективные и безопасные иммуностимуляторы [5].

Целью данных исследований является изучение способности сапонинов, полученных из корня растения *Allochrusa gypsophiloides* формировать ISCOMATRIX

Материалы и методы: В работе использовали лиофильно высушенный спиртовой экстракт корней растения *Allochrusa gypsophiloides*.

Получение сапонинсодержащих экстрактов. Корни растения *Allochrusa gypsophiloides* измельчали до получения частиц диаметром 2-4мм, обрабатывали 2-3 раза 5 кратным объемом этилацетата при комнатной температуре в течение 1,5 часов для удаления жирорастворимых веществ. После удаления липофильных соединений измельчённый корень экстрагировали 3 кратным объемом 75-85% этанола в течение 18 часов при комнатной температуре. Полученный экстракт лиофильно высушивали и использовали для дальнейших исследований [6].

Реакция на пенообразование. В одну пробирку вносили 5 мл 0,1 н раствора кислоты хлороводородной, в другую – 5 мл 0,1 н раствора едкого натрия. В пробирки добавляют по 2-3 капли исследуемого препарата и интенсивно встряхивают. Образование обильной и стойкой пены свидетельствует о наличии в исследуемом препарате соединений тритерпеновых сапонинов [7].

Электронная микроскопия. Изучение структуры ISCOMATRIX проводили методом электронной микроскопии на электронном микроскопе JEOL-100В при инструментальном увеличении 60-80 тыс. Образцы негативно контрастировали 3% ФБК (рН 6,8) методом флотационного или капельного окрашивания. В качестве подложки для препаратов использовали формвар [8].

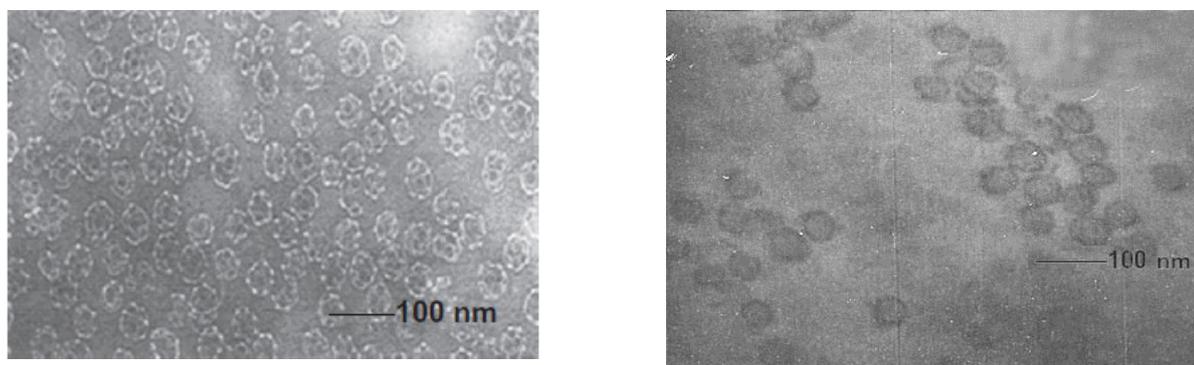
Результаты и обсуждения: Для определения содержания сапонинов в высушенном спиртовом экстракте корней растения *Allochrusa gypsophiloides* проводилась реакция на пенообразование. Высокая пенообразующая способность данного экстракта свидетельствовала о наличии большого количества поверхностно активных веществ, в том числе и сапонинов, которые являлись непосредственным объектом исследований.

Важной особенностью тритерпеновых сапонинов, является способность образовывать надмолекулярные структуры в комплексе с холестерином и фосфолипидами - ISCOMATRIX. Подобные структуры схожи по строению и размерам с вирусными частицами и активно распознаются иммунокомпетентными клетками, что и даёт ISCOMATRIX иммуностимулирующие свойства.

Были проведены исследования по способности формировать ISCOMATRIX сапонины, содержащимися в спиртовом экстракте корней растения *Allochrusa gypsophiloides* в смеси с холестерином и фосфолипидами.

Структуру полученных ISCOMATRIX содержащих сапонины *Allochrusa gypsophiloides* сравнивали со структурой комплексов, сформированных с использованием коммерческого препарата сапонины Квил А.

Для формирования ISCOMATRIX готовили смесь высушенного сапонинсодержащего спиртового экстракта растения *Allochrusa gypsophiloides* с холестерином и фосфолипидами в соотношении 1:1:1 на 5% растворе детергента МЭСК. Раствор подвергали исчерпывающему диализу против фосфатно-солевого буфера. Образование комплексов определяли с помощью электронно – микроскопического анализа (рис. 1).



А  
Б  
Примечание - увеличение 80000; А - ISCOMATRIX комплексы полученные с использование коммерческого сапонина Квил А; Б - ISCOMATRIX комплексы полученные с использование высушенного спиртового экстракта корней *Allochrusa gypsophiloides*;

Рисунок 1 – Электронная микроскопия ISCOMATRIX

Данные электроно - микроскопического анализа показали, что при смешивании высушенного сапонинсодержащего спиртового экстракта корней растения *Allochrusa gypsophiloides* с холестерином и фосфолипидами в соотношении 1:1:1 идёт формирование комплексов, схожих по структуре и размеру с ISCOMATRIX, полученными при использовании коммерческого сапонина Квил А, который давно зарекомендовал себя на мировом рынке как высокоэффективный адъювант.

Таким образом, установлено, что сапонина растения *Allochrusa gypsophiloides* обладают комплексообразующей способностью и как следствие могут обладать высокой иммуностимулирующей активностью.

1. Curtiss, R. Bacterial infectious disease control by vaccine development // J. Clin. Invest.- 2002.- Vol.110, №8.- P. 1061-1066.
2. Bomford, R., Brown, F., Naaheim, L. Modulation of the Immune Response to Vaccine Antigens // Development in Biological Standardization.- 1998.- Vol. 92.- P.13-17.
3. Eduard Y Kostetsky1, Nina M Sanina, Andrey N Mazeika, Alexander V Tsybulsky, Natalia S Vorobyeva and Valery L Shnyrov. Tubular immunostimulating complex based on cucumarioside A2-2 and monogalactosyldiacylglycerol from marine macrophytes // Journal of Nanobiotechnology.- 2011.-№ 9.- P.35.
4. Sun HX, Xie Y, Ye Y.P. ISCOMs and ISCOMATRIX // Vaccine.- 2009.- №27. P. 4388-4401.
5. Rajput Z.I., Hu S., Xiao C., Arijó A. G. Adjuvant effects of saponins on animal immune responses // Univ. Sci. B.- 2007.- Vol. 8, №3.- P. 153-161.
6. Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В., Уварова Н.И. Исследование тритерпеновых гликозидов. - Тбилиси: Мецниереба.-1982.-204 с.
7. Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А. Качественный и количественный анализ основных групп бав в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах. – Алматы: Казак университети.- 2004.- 288 с.
8. Ozel M., Høglund S., Gelderblom H., Morein B. Quaternary structure of the immunostimulating complex (iscom)//Ultrastructure Mol.Structure Research.- 1989.- Vol.102.- P. 240-248

\*\*\*

*Allochrusa gypsophiloides* өсімдік тамырынан бөліп алынған сапониндердің комплекс құрастыру қасиетін анықтау мақсатында зерттеу жүргізілді. Зерттеу нәтижесінде *Allochrusa gypsophiloides* өсімдік сапонині Квил А коммерциялық сапонинді қолданған кездегі комплекске ұқсас, ISCOMATRIX қалыптастыратыны анықталынды.

\*\*\*

Has been studied complexing ability of saponins extracted from roots of plants *Allochrusa gypsophiloides*. According to the research it was found that saponins of plant *Allochrusa gypsophiloides* have the ability to form ISCOMATRIX, similar in structure to the complexes obtained with the use of commercial saponin Quil A.