

Antyoksydanty polifenolowo–polisacharydowe z roślin leczniczych z rodziny
Rosaceae i *Asteraceae* jako radioprotektory

STRESZCZENIE

Jonizacja towarzysząca promieniowaniu jest niebezpieczna dla zdrowia człowieka, indukuje stres oksydacyjny, który może uszkadzać białka, lipidy błonowe, DNA oraz RNA. Jednak promieniowanie jonizujące stosowane w sposób kontrolowany znalazło zastosowanie w medycynie, zarówno w celach diagnostycznych (badania rentgenowskie), jak i leczniczych (radioterapia). Stosowanie związków radioochronnych, które ochronią komórki prawidłowe przed szkodliwym działaniem promieniowania jest niezwykle ważne w profilaktyce schorzeń wynikających z zawodowego (personel radiologii onkologicznej i diagnostycznej) lub przypadkowego narażenia człowieka na promieniowanie. Idealny radioprotektor powinien spełniać kilka kryteriów, m.in.: zapewniać znaczącą ochronę przed szkodliwym działaniem promieniowania, odznaczać się minimalną toksycznością i dużą stabilnością, wykazywać brak interferencji z szeroką gamą innych leków, działać wybiórczo (w radioterapii) – ochrona komórek prawidłowych, przy braku wpływu na promienioczułość komórek nowotworowych. Jak dotąd nie znaleziono idealnego radioprotektora, a obecnie dostępny syntetyczny radioprotektor stosowany podczas radioterapii, wykazuje poważne skutki uboczne. Spośród wielu badanych związków chemicznych dobrymi kandydatami na radioprotektory są fitoterapeutyki (ekstrakty oraz substancje uzyskiwane z roślin). Substancje wchodzące w skład roślin wykazują właściwości antyoksydacyjne o udowodnionym działaniu radioochronnym lub radiouczulającym.

Celem pracy była ocena czy preparaty roślinne o strukturze glikokoniugatów polifenolowych i ich aglikony, wyizolowane z wybranych roślin leczniczych z rodziny *Rosaceae* oraz *Asteraceae*, takich jak *Sanguisorba officinalis* L., *Fragaria vesca* L., *Rubus plicatus* Whe. et N. E., i *Erigeron canadensis* L., wykazują właściwości radioochronne *in vitro*, a także wyjaśnienie mechanizmów ich działania. Na podstawie uzyskanych wyników wstępnych, obejmujących porównanie działania glikokoniugatów polifenolowych z ich aglikonami, do dalszych badań wybrano glikokoniugaty polifenolowe, ze względu na ich rozpuszczalność w wodzie w przeciwieństwie do aglikonów oraz porównywalną skuteczność działania radioochronnego. Cel pracy realizowano poprzez (1) ocenę cytotoksyczności badanych glikokoniugatów z wybranych roślin wobec fibroblastów mysich oraz komórek jednojądrzastych krwi obwodowej człowieka, (2) określenie udziału badanych

glikokoniugatów w ochronie komórek jednojądrzastych krwi obwodowej człowieka i elementów osocza ludzkiego przed indukowanymi promieniowaniem gamma: stresem oksydacyjnym, genotoksycznością i apoptozą. Dokonano również (3) oceny wpływu glikokoniugatów na ochronę komórek nowotworowych K562 przed indukowanym promieniowaniem jonizującym gamma stresem oksydacyjnym i apoptozą.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że wybrane glikokoniugaty polifenolowe nie wykazują toksyczności wobec fibroblastów mysich ani komórek jednojądrzastych krwi obwodowej człowieka, zwiększają przeżywalność komórek jednojądrzastych krwi obwodowej człowieka po napromienieniu, poprzez zmiatanie wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu, zmniejszanie poziomu uszkodzeń DNA oraz uszkodzeń oksydacyjnych zasad, hamowanie peroksydacji lipidów, ochronę białek enzymatycznych (dysmutaza ponadtlenkowa i transferaza glutationowa) i zredukowanego glutationu oraz hamowanie apoptozy. Glikokoniugaty zmniejszają także poziom uszkodzeń DNA, w tym uszkodzeń oksydacyjnych zasad, w napromienionych uprzednio komórkach jednojądrzastych (dodawane po napromienieniu). Glikokoniugaty polifenolowe z wybranych roślin leczniczych nie mają wpływu na poziom zredukowanego glutationu i wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu, ani też na przeżywalność i apoptozę komórek białaczkowych K562.

Glikokoniugaty polifenolowe z wybranych roślin leczniczych spełniają kryterium radioprotektora o potencjalnym zastosowaniu w radioterapii, ponieważ działają selektywnie, wykazując właściwości radioochronne *in vitro* wobec komórek prawidłowych, natomiast nie chronią komórek nowotworowych (K562). Największą skuteczność działania radioochronnego, porównywalną z kwercetyną, stosowaną jako związek referencyjny, wykazuje glikokoniugat polifenolowy wyizolowany z *Sanguisorba officinalis*.

Magdalena Szyn

Polyphenolic-polysaccharide antioxidants from medical plants of *Rosaceae* and *Asteraceae* family as radioprotectors

SUMMARY

Ionizing radiation is hazardous to human health, it induces oxidative stress, which can damage proteins, membrane lipids, DNA and RNA. However, ionizing radiation applied in a controlled manner has been used in medicine, both for diagnostic (X-ray) and therapeutic (radiotherapy) purposes. Application of radioprotectors - compounds that protect normal cells against the adverse effects of radiation is extremely important both in the occupational (oncology and diagnostic radiology personnel) and accidental human exposure to radiation. The ideal radioprotective agent should fulfill several criteria, among others, it should provide a sufficient protection against harmful effects of radiation, should have minimal toxicity and high stability, show no interference with a wide range of other drugs, and to be used in radiotherapy it must also selectively protect normal tissues against radiation without affecting its therapeutic efficacy. The ideal radioprotector has not been found so far. Currently, the only clinically used synthetic radioprotector has serious side effects. Among the many tested chemical compounds, phytotherapeutics (extracts and substances obtained from plants) are good candidates for radioprotectors. Many plant compounds have antioxidant properties with proven radioprotective or radiosensitizing effects.

The aim of this study was to examine whether the polyphenolic glycoconjugates and their aglycones, isolated from the selected medicinal plants of the *Rosaceae* and *Asteraceae* families, such as *Sanguisorba officinalis* L., *Fragaria vesca* L., *Rubus plicatus* Whe. et N. E., and *Erigeron canadensis* L., can protect human peripheral blood mononuclear cells against damaging effects of ionizing radiation, and to explain the mechanisms of their action. Based on the preliminary results, including the activity comparison of the polyphenolic glycoconjugates with their aglycones, the polyphenolic glycoconjugates were selected for further study, due to their solubility in water, as opposed to aglycones, and comparable radioprotective effectiveness. The research goals were achieved by (1) the assessment of the cytotoxicity of the glycoconjugates towards L929 mouse fibroblasts and peripheral blood mononuclear cells, (2) evaluation of the efficacy of plant preparations in the protection

of human peripheral blood mononuclear cells and elements of human plasma against oxidative stress, genotoxicity and apoptosis that had been induced by gamma radiation. The radioprotective effects of the polyphenolic glycoconjugates in the myeloid leukemia cell line - K562 was also examined.

The results have shown that the selected plant glycoconjugates were not toxic to the mouse fibroblasts or human peripheral blood mononuclear cells. Glycoconjugates increased the post-radiation survival of the peripheral blood mononuclear cells by scavenging intracellular reactive oxygen species, by reducing the DNA damage and the base oxidative damage, by inhibiting lipid peroxidation, and by protecting the enzyme proteins (superoxide dismutase and glutathione transferases) and reduced glutathione, and by inhibiting apoptosis. Additionally, glycoconjugates have reduced the DNA damage, including oxidative damage to the bases, followed by irradiation of the mononuclear cells (while added after irradiation). However, the glycoconjugates did not show any protective effects on the intracellular glutathione and ROS levels, survival and apoptosis of the K562 myeloid leukemia cells.

It can be concluded, that the polyphenolic glycoconjugates from the selected medicinal plants fulfill the radioprotector criteria that could potentially be used in radiotherapy, because they can protect normal cells, while they do not provide any protection to cancer cells. Among the selected plant preparations, the polyphenolic glycoconjugate from *Sanguisorba officinalis* was shown to have the most effective radioprotective activity, that was comparable to quercetin.

Magdalene Szejt