

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2015

С. И. Павлова^{2, 3}, Д. З. Албегова¹, Ю. С. Воробьева^{1, 2}, О. С. Лаптев^{1, 2},
И. Г. Козлов^{1, 2}

ФЛАВОНОИДЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИММУНОСУПРЕССАНТЫ, ВОЗДЕЙСТВУЮЩИЕ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ (ОБЗОР)

¹ ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия.

² ФГБУ ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия.

³ ФГБОУ ВПО Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова, Чебоксары, Россия.

Флавоноиды представляют собой большую группу полифенольных соединений, присутствующих практически во всех высших растениях. Исследования последних лет продемонстрировали широкий спектр биологических эффектов этих соединений как в норме, так и при различных патологических состояниях. По-видимому, биологическая активность большинства представителей этого класса веществ, в основном, обусловлена их способностью проникать внутрь клеток и блокировать ферменты сигнальных путей и факторы транскрипции, в том числе и вовлеченные в процессы активации, пролиферации и реализации эффекторных функций клеток иммунной системы. Более того, следует отметить, что в ряде случаев авторами приводятся данные о высокой эффективности флавоноидов в экспериментальной терапии модельной иммунной патологии, свидетельствуя о перспективности их как основы для создания новых фармакологических агентов, подавляющих или “нормализующих” иммунный ответ.

Ключевые слова: флавоноиды; иммунотропные эффекты; внутриклеточные сигнальные молекулы.

1. Структурное разнообразие флавоноидов — основа для создания новых лекарственных препаратов

Флавоноиды представляют собой одно из самых разнообразных (более 4000 представителей) семейств вторичных метаболитов растительной клетки. На сегодняшний день они рассматриваются как активные метаболиты клеточного обмена растений, выполняющие важную роль во многих физиологических процессах: фотосинтезе, дыхании, формировании устойчивости к инфекционным агентам. Большинство таких соединений определяют пигментацию различных частей растений и выполняют роль фильтра, поглощающего свет в коротковолновой части спектра (280 – 320 нм), вследствие чего защищают фотосинтезирующий аппарат клетки от повреждающего воздействия УФ-радиации.

По химической структуре флавоноиды относятся к полифенольным соединениям. В основе их структуры лежит скелет, состоящий из 2 бензольных колец, соединенных между собой трехуглеродной цепочкой. Это приводит к образованию C_{15} -гетероцикла, где кольцо В углеродного скелета представлено фенилаланином, а кольца А и С — результат конденсации 3 молекул малонил-КоА в процессе биосинтеза молекулы флавоноида в растениях (рис. 1). Положение заместителей в углеродных кольцах В и С обуславливает

структурное разнообразие (рис. 2) этого класса соединений, тогда как кольцо А за некоторым исключением имеет относительно консервативную структуру.

На рис. 1 и 2 показаны общие структурные формулы флавоноидов и их некоторых подклассов, которые не связаны с молекулой сахара (агликоны). Однако в растениях эти соединения часто представлены также и в виде гликозидов, т.е. могут быть связанными с одной или более молекулой сахара. Присоединение углеводных остатков влияет на физико-химические свойства флавоноидов. В то время как агликоны характеризуются высокой липофильностью и, как правило, нерастворимы в воде, гликозиды флавоноидов, содержащие более 3 остатков сахара, наоборот, растворяются в воде, но не в полярных органических растворителях.

Плохо поддается классификации принадлежность подклассов или отдельных флавоноидов к тому или иному семейству высших растений. Даже отдельные семейства растений характеризуются исключительным многообразием типов полифенольных соединений, синтезируемых в их представителях (табл. 1). Во многих литературных источниках отмечается, что наиболее богаты флавоноидами растения семейства бобовых.

Исследования, проведенные в последние десятилетия, демонстрируют, что флавоноиды, а также некоторые ферменты, участвующие в их биосинтезе, локали-

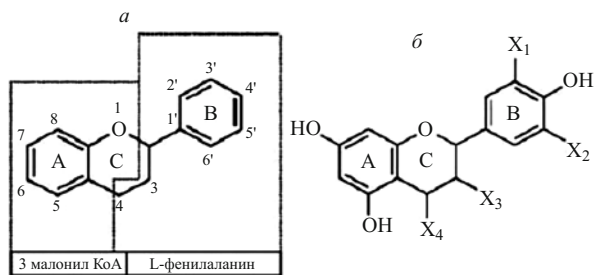


Рис. 1. Углеродный скелет (а) и общая структурная формула флавоноидов (б).

зуются в различных компартментах, включая ядерный аппарат растительной клетки [1]. Тот факт, что некоторые флаван-3-олы связываются с гистонами в клеточном ядре растений, сформировал предположение о том, что подобные молекулы могут модулировать транскрипцию генов и, по-видимому, не только в самой растительной клетке. Так, флавоноиды экссудата корней бобовых растений регулируют транскрипцию генов у азотфиксирующих клубеньковых бактерий, исполняя роль индукторов образования сигнальных молекул (Nod-факторов: липохитоолигосахаридов) в процессе становления симбиоза растения и микроорганизма [2]. Интересно, что секретируемые липохитоолигосахариды, действуя через специфические рецепторы и иницируя Ca^{2+} -зависимый сигнал, опосредуют подавление иммунных реакций растительной клетки, что необходимо на ранних этапах становления симбиоза, в то время как структурные аналоги Nod-факторов — N-ацетилхитоолигосахариды (компоненты хитина грибов) — запускают активацию защитных механизмов клетки растения [3].

В животных клетках флавоноиды не обнаруживаются, однако огромное количество экспериментов посвящено их исследованию именно в этих биологических системах. В литературе в качестве возможного механизма действия флавоноидов рассматривается их способность ингибировать активность различных ферментативных систем. Также, в условиях *in vitro* продемонстрирована возможность влияния различных флавоноидов на транскрипцию генов у млекопитающих посредством влияния на активность гистонов или топоизомераз. Однако подавляющее большинство экспериментальных данных свидетельствует о том, что влияние флавоноидных соединений на транскрипцию генов у млекопитающих опосредовано изменением фосфорилирования в сигнальных каскадах за счет влияния на активность ферментов класса протеинкиназ и, вследствие этого, работу факторов транскрипции (табл. 2).

Протеинкиназы относятся к суперсемейству гомологичных белков-ферментов, катализирующих перенос фосфатных групп от АТФ чаще всего к аминокислотным остаткам серина, треонина или тирозина. В эукариотических клетках обратимое фосфорилирование белков, катализируемое протеинкиназами и фосфопротеинфосфатазами, являются ключевыми меха-

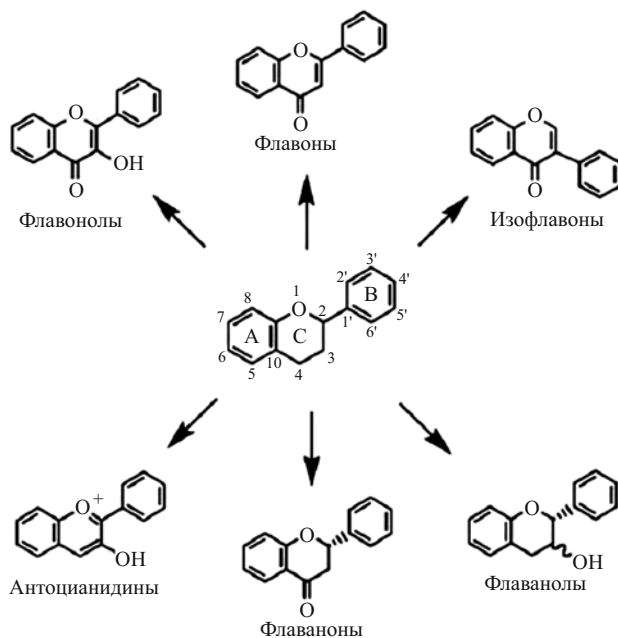


Рис. 2. Структурное разнообразие флавоноидов. Основные подклассы.

низмами переключения активности клеток при регуляции различных программируемых процессов, включая рецептор-зависимый ответ клетки на внешний сигнал.

В исследованиях *in vitro* с использованием очищенных ферментов или клеточных экстрактов продемонстрировано прямое связывание некоторых флавоноидов с протеинкиназами. Есть мнение, что такие подклассы флавоноидов как флавоны и флавонолы способны взаимодействовать с АТФ-связывающими сайтами белков, т.к. они обладают структурным сходством с молекулой АТФ. Так, например, 3',4'-дигидроксилированные флавоны и флавонолы эффективно ингибировали протеинкиназу С (серин-треониновую киназу), посредством конкурентной блокады АТФ-связывающего сайта, EC_{50} находилась в диапазоне концентраций 1 – 10 мкМ [4]. Тетрагидроксиалкон бутенин таким же способом селективно ингибировал тирозинкиназу [5].

Большое количество экспериментальных работ последних лет обнаруживают то, что различные флавоноиды способны модулировать активность ферментов сигнального MAPK-пути (MAPK — митоген активируемая протеинкиназа) в различных клетках. Семейство MAP-киназ делят на 3 подсемейства: киназы, регулируемые внеклеточными сигналами (ERK, extracellular signal-regulated kinases), c-Jun-N-терминальные киназы (JNK) и p38 киназа. Сигнальный путь, опосредованный MAP-киназами, очень широко используется клеткой при ее стимуляции. Роль этого сигнального пути, главным образом, сводится к активации транскрипционного фактора AP-1, что катализируется JNK, посредством фосфорилирования c-Jun-белка. Показана высокая ингибирующая активность многих флавоноидов по отношению ко всем членам семейства MAPK, при этом есть единичные сведения о том, что

некоторые представители растительных полифенольных соединений могут обладать и активирующими свойствами в определенных модельных системах.

Важной регуляторной системой, контролирующей экспрессию генов, является NF- κ B/IKK-зависимый сигнальный путь, приводящий к активации фактора транскрипции NF- κ B. В качестве ключевого промежуточного активирующего звена этого сигнального пути выступает I κ B-киназа (IKK), фосфорилирующая ингибиторную субъединицу (I κ B) данного транскрипционного фактора. Огромный пул исследований демонстрирует ингибирование этого сигнального каскада флавоноидами.

При том, что основным назначением транскрипционных факторов является переключение программы клетки в ответ на гормоны, цитокины или факторы роста, некоторые из них могут активироваться и изменять экспрессию генов под влиянием активных форм O₂. К таковым “редокс-чувствительным” факторам транскрипции принадлежат, например, NF- κ B, AP-1 и Nrf2, которые могут отвечать на изменение восстановленных и окисленных SH-групп в белках. В промоторных участках многих генов выявляют ARE (Antioxidant Responsive Element)-регионы, связываемые некоторыми редокс-чувствительными факторами транскрипции (например, Nrf2). Флавоноид гесперидин проявляет способность активировать транскрипцию генов ERK/MAPK, регулируемых ARE [9]. Вероятно, что в основе механизмов цитопротекторной активности флавоноидов лежат не только акцепторные свойства по отношению к активным метаболитам O₂, но и способность этих соединений активировать редокс-чувствительные факторы транскрипции.

Флавоноиды как лекарственные средства с фармакологической точки зрения соединения класса флавоноидов представляют большой интерес, потому что демонстрируют широкий спектр эффектов: противовирусный, гепатопротекторный, противовоспалительный, антиоксидантный, а также антиканцерогенный и противоопухолевый. На сегодняшний день лекарственные препараты, созданные на основе суммы флавоноидов или очищенных индивидуальных соединений, представлены на фармацевтическом рынке и используются преимущественно в качестве гепатопротекторных, желчегонных, ангиопротекторных, вентонических средств, иногда подобного рода активность обозначают как Р-витаминную активность (табл. 3).

Тот факт, что флавоноиды представляют собой группу веществ, которые обычно встречаются во многих растениях, делает их важной частью пищевого рациона практически каждого человека. Ежедневное потребление флавоноидов с пищей (овощи, фрукты, чай, вино) может достигать сотен миллиграммов, однако фармакологически значимая концентрация в плазме крови человека не достигается благодаря выраженному пресистемному метаболизму [13]. Поступившие в печень флавоноиды подвергаются конъюгации с глюкуроновой кислотой и сульфатом, а в ряде случаев и O-метилированию. Таким образом, биодоступность

этих соединений может быть очень низкой и варьирует в зависимости от их структуры, а значит и биологические эффекты флавоноидов могут быть неоднозначными/несопоставимыми между собой при разных способах введения экспериментальным животным и при исследованиях *in vitro*. Часто привлекательный фармакодинамический профиль флавоноидов, показанный в экспериментах *in vitro*, нивелируется результатами исследования *in vivo* данной группы соединений.

Многообещающим направлением в решении проблемы биодоступности является как использование современных средств доставки, так и химическая модификация природных флавоноидов с целью получения полусинтетических соединений, обладающих новым удовлетворительным фармакокинетическим профилем и сохранившимися нативными фармакологическими свойствами.

2. Иммуотропные свойства флавоноидов

Анализ доступной литературы свидетельствует о том, что в последние годы большое внимание уделяется изучению иммуотропной активности флавоноидных соединений. Уже на сегодняшний день накоплено немало данных о влиянии флавоноидов на различные звенья иммунной системы человека и животных. С точки зрения современных подходов к классификации иммунных реакций иммуотропные эффекты флавоноидов логично рассматривать в аспектах воздействия на механизмы врожденного и адаптивного иммунитета.

3.1. Флавоноиды и механизмы врожденного иммунитета

Врожденный иммунитет считается самой ранней формой иммунной защиты организма хозяина, возникшей на начальных этапах эволюции многоклеточных организмов, клеточные и гуморальные эффекторы которого способны сдерживать патоген до момента включения адаптивного иммунного ответа. Наиболее старой и мощной формой клеточного звена врожденного иммунитета является фагоцитоз. Нейтрофилы, наряду с моноцитами/макрофагами, рассматривают как основные фагоцитирующие клетки. Во время острой фазы воспаления, в частности, в результате бактериальной инфекции, нейтрофилы мигрируют к очагу воспаления. Этот процесс называется хемотаксисом. Они обычно являются первыми клетками, реагирующими на инфекцию.

Существующие экспериментальные данные свидетельствуют о том, что некоторые представители класса флавоноидов способны влиять на активность клеток, принимающих участие во врожденных иммунных реакциях [14 – 19]. Так, в экспериментах *in vitro* продемонстрировано, что апигенин в довольно низких концентрациях (EC₅₀ соответствовала 5 нМ) подавляет индуцированный ИЛ-8 хемотаксис нейтрофилов [14], флаванол эпигаллокатехин галлат подавляет адгезию моноцитов к фибронектину и их миграцию, блокируя экспрессию хемокинового рецептора CCR2 и белка, вызывающего хемотаксис моноцитов (MCP(моноци-

тарный хемотаксический фактор)-1) [15], а генистеин устраняет хемотаксический эффект катехина (эндогенный пептид, продукт протеолитической деградации хромогранина А) по отношению к моноцитам периферической крови человека [16]. Также и в условиях организма флавоноиды, выделенные из корней солодки, снижают ЛПС(липополисахарид)-индуцированную воспалительную инфильтрацию (преимущественно нейтрофилами) легочной ткани, уменьшая ее повреждение. В дозе 30 мг/кг данный эффект был сравним с эффектом 1 мг/кг дексаметазона [17]. В противоположность вышеизложенным данным в работе [18] приводятся результаты исследования, где флаванол ампелопсин (дигидромирицетин) повышал хемотаксис моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов, проявляя синергичный эффект с MCP-1 и ИЛ(интерлейкин)-8. Вероятно, эти различия могут быть объяснены как особенностью отдельных представителей класса полифенолов, так и различным активационным статусом (покой, прайминг) нейтрофилов или моноцитов до воздействия на эти клетки. Возможность правомочности последнего утверждения продемонстрирована с использованием ингибитора тирозинкиназы — изофлавоноид соевых бобов: генистеин *in vitro* стимулировал трансмиграцию неактивированных нейтрофилов и, наоборот, подавлял (или не влиял) эту способность у активированных/праймированных полиморфноядерных клеток [19].

Полифенольные соединения растений *in vitro* проявляют способность ингибировать продукцию активных форм кислорода фагоцитами, и, по-видимому, это происходит за счет различных механизмов [20, 21]. В то время как флаванон изопедицин эффективно ингибировал продукцию супероксид-аниона нейтрофилами, активированными формил-метионил-лейцил-фенилаланином, не проявляя свойств акцептора этой активной формы O_2 , а также не затрагивая активность НАДФН-оксидазы [20], полифенолы красного винограда, а также кверцетин снижали экспрессию некоторых субъединиц НАДФН-оксидазы (p47phox, p22phox и gp91phox) [21]. Во многих исследованиях продемонстрировано, что различные флавоноиды (физетин, кверцетин и др.) являются потенциальными ингибиторами окислительной модификации макрофагами липопротеинов низкой плотности, проявляя высокую антиоксидантную активность.

Одной из причин быстрого включения механизмов врожденного иммунитета является наличие у клеток-эффекторов паттерн-распознающих рецепторов (PRR, pattern recognized receptor), специфичных для высококонсервативных структур целых классов патогенов. Среди PRR центральное место занимают так называемые Toll-подобные рецепторы (TLR), изменение функциональной активности которых под влиянием флавоноидов описано в различных источниках [22, 23].

После активации TLR происходит их ди- или олигомеризация и связывание с адапторными белками (MyD88, TIRAP, TRIF, TRAM и SARM), что обеспечи-

вает последующую передачу сигнала. Флавоноид солодки изоликувиритигенин способен подавлять гомодимеризацию TLR4 в ответ на активацию его ЛПС [22], тогда как лютеолин не ингибировал олигомеризацию TLR4 и TLR3, индуцированную агонистами этих рецепторов, но снижал активность TANK-связывающей киназы (активатор NF- κ B из семейства TRIF-адапторного белка), приводя к отрицательной регуляции TRIF-зависимого сигнального пути [23].

Соединения флавоноидной структуры могут оказывать и другие воздействия на активационный сигнальный каскад, который запускается после специфического связывания лиганда-агониста с PRR, что приводит к изменению эффекторных функций клеток врожденного иммунитета. Экспрессия многих цитокинов и хемокинов в ответ на стимуляцию PRR моноцитов/макрофагов модулируется факторами транскрипции, такими как NF- κ B. По-видимому, некоторые флавоноиды ингибируют фосфорилирование белка-ингибитора (I κ B α), что отменяет транслокацию в ядро субъединицы p65 транскрипционного фактора NF- κ B и экспрессию NF- κ B-зависимых генов в ответ на стимуляцию PRR. В экспериментальных моделях с использованием моноцитов/макрофагов человека или экспериментальных животных различные флавоноиды (апигенин, диметил кардамонин, тилирозид, кверцетин, эпигаллокатехин галлат) ингибировали ЛПС-стимулированную продукцию целого спектра провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО (фактор некроза опухоли) α , ИЛ-8, ИЛ-6, ИЛ-12, ИФН β (интерферон β) и ИЛ-27), хемокинов (CXCL9), оксида азота (NO), снижали экспрессию ЦОГ $_2$ и индуцибельной NO-синтазы, что коррелировало со сниженной экспрессией генов, кодирующих эти молекулы [11, 24 – 26]. Эти экспериментальные данные, полученные в условиях *in vitro*, положительно коррелируют с эффективностью некоторых флавоноидов (внутрибрюшинное введение) при экспериментальном септическом шоке, индуцированном ЛПС. На мышинной модели ЛПС-индуцированного системного воспаления эти соединения ингибируют продукцию ФНО α , что сопровождается увеличением выживаемости животных [26].

В то же самое время встречаются единичные исследования, в которых флавоноиды оказывают противоположное действие на нестимулированные мононуклеары человеческой крови — способствуют повышению этими клетками продукции интерлейкинов.

При том, что основными эффекторами в системе врожденного иммунитета считаются миелоидные клетки, клеткам лимфоидного происхождения также отводится важная роль в осуществлении врожденных защитных реакций. К таковым относятся естественные киллеры (NK-клетки), которые способны распознавать чужеродную или изменившуюся клетку и осуществлять ее контактный цитолиз. Как показывают эксперименты, флавоноиды повышают активность NK-клеток у мышей-опухоленосителей. Так, например, флавоноид ацетат при парентеральном введении (200 – 250 мг/кг) проявлял *in vivo* дозозависимый про-

тивоопухольный эффект, увеличивал активность мышинных NK-клеток, повышая уровень сывороточных интерферонов (α и β) [27].

Распознавание патогена или его составных частей врожденной иммунной системой индуцирует экспрессию не только цитокинов и хемокинов, но и также ко-стимулирующих молекул. Высокая экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости МНС в сочетании с ко-стимулирующими молекулами (CD80, CD86) позволяет таким эффекторам врожденного иммунитета, как дендритные клетки и фагоциты, выступать в роли антигенпрезентирующих клеток, активирующих наивные лимфоциты и запускающих адаптивный иммунный ответ. Ко-стимуляторный сигнал, опосредованный, например, молекулами CD80 или CD86 на поверхности антигенпрезентирующей клетки, может модулироваться полифенольными соединениями. По данным [28] при культивировании мышинной макрофагальной линии J774A.1 в присутствии изофлавоноидов генистеина (0,1 – 50 мкг/мл) в течение 24 ч повышается экспрессия на этих клетках ко-стимулирующих молекул CD80 и CD86. Подобные изменения наблюдались *in vivo*, в мышинных перитонеальных клетках после кормления (15 – 60 мг/мышь) экспериментальных животных этим флавоноидом в течение 3 дней. В противоположность вышеприведенным фактам, по данным других авторов генистеин значительно супрессирует ЛПС-стимулированное созревание дендритных клеток моноцитарного происхождения и уменьшает экспрессию NF- κ B-зависимых генов (в частности гена, кодирующего ИЛ-6) [29]. Другой представитель флавоноидов эпигаллокатехин галлат также дозозависимо супрессирует ЛПС-индуцированное созревание и экспрессию CD80, CD86, а также МНС-I и -II классов на поверхности дендритных клеток костно-мозгового происхождения у мышей [30].

3.2. Флавоноиды и адаптивный иммунный ответ

В отличие от врожденного, основу адаптивного иммунитета составляет формирующийся в ответ на антиген-специфический клон лимфоцитов. Зрелый антиген-специфический клон лимфоцитов-эффекторов обеспечивает активное удаление антигена из организма. Последнее обусловлено высокой специфичностью эффекторов адаптивного иммунитета, однако в качестве антигенов для этих клеток могут выступать не только чужеродные, но и эндогенные молекулы, что таит риск запуска аутоиммунных процессов. Поэтому при изыскании иммуносупрессантов желательнее делать упор на вещества высокоспецифично подавляющие иммунную реакцию на антиген.

Стимуляция Т-лимфоцитов антигеном приводит к экспрессии индуцибельных генов, обеспечивающих их пролиферацию для экспансии клона. Прежде всего – это экспрессия гена аутокринного ростового фактора ИЛ-2 и его рецептора. Конформационные изменения Т-клеточного рецептора, а также связанных с ним ко-рецепторов сопровождаются ранней активацией рецепторных тирозинкиназ Lck и Fyn, в дальнейшем обуславливая активацию фосфолипазы C и генерацию

вторичных мессенджеров. В работе [31] показали, что изофлавоноид генистеин, селективный ингибитор протеинтирозинкиназ, дозозависимо блокирует активность p56^{lck}. Ингибирование активности этого фермента коррелирует с уменьшением секреции ИЛ-2 и экспрессии рецептора этого цитокина Т-лимфоцитами, но напрямую не связано с гидролизом инозитолфосфата.

Как известно, под влиянием ИЛ-2 запускается деление CD4⁺ Т-лимфоцитов и одновременно антигензависимая дифференцировка адаптивных субпопуляций. В доступной для анализа литературе все больше появляется сведений об эффективности полифенолов растительного происхождения в модуляции и/или супрессии иммунного ответа, опосредованного различными субпопуляциями Т-лимфоцитов-хелперов (Th1, Th2, Th17).

Многие флавоноиды *in vitro* угнетают пролиферацию митоген-активированных лимфоцитов [32]. В этой работе представлены результаты по 34 индивидуальным флавоноидам, включающим производные халконов, флаванолов, флаван-3-олов, флавонолов, флавононов, а также их гликозидов. Не все представители флавоноидов одинаково эффективно ингибировали пролиферацию КоА- и ЛПС-стимулированных мышинных лимфоцитов. Пролиферативный ответ КоА-стимулированных лимфоцитов подавляли все производные флавонолов и флаванолов, имеющие 2,3-ненасыщенную связь и, по крайней мере, 1 гидроксильную группу, тогда как пролиферацию ЛПС-стимулированных лимфоцитов к концентрации менее чем 10⁻⁵ М подавлял только мирицетин [32]. В то же время силмарин (суммарный препарат флавоноидов из расторопши пятнистой) при приеме внутрь значительно повышал ответ лимфоцитов периферической крови у пациентов с алкогольным циррозом на стимуляцию КоА и ФГА (фитогемагглутенин) [33], правда в работе других авторов этот же препарат в условиях *in vitro* инги-

Таблица 1
Основные представители класса флавоноидов, их возможные источники в окружающей среде

Подклассы флавоноидов	Представители	Растение-источник или продукт питания
Флаванолы	Катехин Галлокатехин Эпикатехингаллат	чай, красный виноград, красное вино, какао бобы, шоколад
Флаваноны	Гесперидин Нарингенин Ликвиритигенин	растения семейства цитрусовых: апельсин, лимон и др., корень солодки
Флавоны	Апигенин Лютеолин	листья зелени (петрушка и др.)
Флавонолы	Кверцетин Мирицетин Кемпферол	яблоки, томаты, лук, брокколи и др.
Антоцианидины	Дельфинидин Петунидин Цианидин	ягоды: земляника, клубника, черника и др.
Изофлавоноиды	Генистеин Дайдзеин Изоликвиритигенин Глабридин	растения семейства бобовых: бобы сои, корень солодки

бировав пролиферацию мононуклеаров периферической крови человека, активированных анти-CD3 моноклональными антителами, а также подавлял пролиферацию CD4⁺ Т-лимфоцитов, проинкубированных с различными рекомбинантными антигенами (с22, с100, NS5) вируса гепатита С [34].

Некоторые исследователи обсуждают потенциальную возможность использования комбинации генистеина с циклоспорином А для воздействия на пролиферацию Т-лимфоцитов, резистентных к этому иммунодепрессанту, производя сравнение иммуносупрессивных эффектов генистеина и циклоспоринона А в отношении Т-лимфоцитов, стимулированных ФМА (форболмиристилацетат) и анти-CD28 моноклональными антителами *in vitro* [35]. Генистеин подавлял пролиферацию Т-лимфоцитов, синтез ИЛ-2 и экспрессию рецепторов ИЛ-2 без проявления цитотоксичности, тогда как циклоспорин А не обладал ингибиторными свойствами в данной модельной системе. В работе [36], наоборот, показывают возможность уменьшения выраженности иммуносупрессии, индуцированной циклоспорином А у мышей при пероральном приеме другого флавоноид-гликозида, выделенного из *Cuminum cyminum*.

Флавоноид-агликон солодки ликвиритигенин, но не соответствующий ему гликозид ликвиритин, повышал резистентность экспериментальных животных к инфицированию *Candida albicans*. Увеличение выживаемости мышей наблюдалось при внутрибрюшинном введении препарата и сопровождалось стимуляцией

Th1-иммунного ответа, в то время как *in vitro* прямого фунгицидного эффекта не наблюдалось. Эффект ликвиритигенина адаптивно переносился CD4⁺ Т-лимфоцитами и устранялся при внутривенном введении моноклональных антител к CD4 [37]. В модели коллаген-индуцированного ревматоидного артрита у крыс другой флавоноид — генистеин, наоборот, снижал выраженность Th1-ответа, что коррелировало с угнетением продукции ключевого для Th1-клеток цитокина ИФН γ и увеличением продукции ключевого для Th2-клеток ИЛ-4 [38].

Th2-клетки в основном выступают в качестве клеток-помощников для В-лимфоцитов при гуморальном иммунном ответе; активность Th2 требуется для полноценной стимуляции В-клеток антигеном. Для эффективной активации В-лимфоцитов также необходимо перекрестное связывание антигеном В-клеточного рецептора (мембранного иммуноглобулина) и/или агрегация этих рецепторов, индуцированная лигандами МНС-II, что инициирует сигнал, который сопровождается фосфорилированием тирозина. В исследованиях [39] показана способность флавоноида-ингибитора тирозинкиназы генистеина подавлять этот активационный сигнал. Генистеин также ингибировал образование инозитолтрифосфата в В-лимфоцитах и последующее повышение внутриклеточного Ca²⁺ [39]. Эти данные свидетельствуют о том, что определенные представители флавоноидов могут ингибировать и гуморальный иммунный ответ, а, следовательно, и продукцию иммуноглобулинов плазматическими клетками. Так возможность последнего продемонстрирована

Таблица 2
Флавоноиды, влияющие на активность внутриклеточных сигнальных молекул

Флавоноид	Киназа и/или фактор транскрипции	Клетки (ответ)	Лит. ссылка
Апигенин, лютеолин	Ингибирование: IKK (NF-kB), ERK, JNK, p38-киназа	Эпителий респираторного тракта (снижение экспрессии ICAM-1)	[6]
Эпикатехин галлат	Ингибирование: ERK, JNK, p38-киназа, NF-kB	Человеческие фибробласты (снижение продукции провоспалительных медиаторов)	[7]
Байкалин	Ингибирование: NF-kB	Нейроны (нейропротекция)	[8]
Гесперидин	Активация: ERK, Nrf2	Человеческие гепатоциты L02 (цитопротекция, антиоксидантный эффект)	[9]
Флавакаваин В	Ингибирование: IKK (NF-kB), но активация: ERK, JNK, p38-киназа	НерG2 (гепатотоксичность, индукция оксидативного стресса)	[10]
Производное икариина	Ингибирование: p38-киназа, NF-kB	Макрофаги RAW264.7 (снижение ФНО α , экспрессии мРНК NO-сингазы и ЦОГ ₂)	[11]
Кемпферол	Ингибирование: ERK, JNK, p38-киназа, Src-киназы	Мышинные эпидермальные клетки JB6 P+ (<i>in vitro</i>), кожа мыши (<i>in vivo</i>) (цитопротекция, снижение ЦОГ ₂ при УФ-облучении)	[12]

Таблица 3
Некоторые лекарственные препараты флавоноидов

Препарат	Форма выпуска	Международное непатентованное наименование	Основной фармакологический эффект
Венорутон Рутин	Капсулы, таблетки, гель для наружного применения	Рутозид	Ангиопротекторный, венотонизирующий
Детралекс Венарус	Таблетки	Гесперидин + диосмин	
Диосмин Флебодиа-600	Таблетки	Диосмин	
Троксерутин Троксевазин	Капсулы, гель для наружного применения	Троксерутин	
Дигидрокверцетин Кверцетин	Таблетки	Дигидрокверцетин Кверцетин	Ангиопротекторный Ангиопротекторный
Ликвиритон	Таблетки	Солодки корневой флавоноидный препарат	Спазмолитический, противовоспалительный, антацидный
Силимарин	Драже, капсулы, гранулы	Силибинин	Гепатопротекторный
Фламин	Таблетки, гранулы	Сумма флавоноидов цветков бессмертника песчаного	Желчегонный

в [40]. Обнаружено, что кверцетин, но не таксифолин (дигидрокверцетин), ингибирует митоген-стимулированную секрецию иммуноглобулинов различных типов [40].

Также имеются данные о влиянии флавоноидов на пролиферацию и апоптоз CD19⁺ мононуклеаров человека, активированных поквид-митогеном *in vitro*. Флавоноид ресвератрол проявлял модулирующие свойства: в концентрации 10 мкМ ингибировал пролиферацию В-лимфоцитов, что сопровождалось экспрессией антиапоптогенного белка Bcl-2, тогда как в меньших концентрациях наблюдалась тенденция к стимуляции пролиферации. Кемпферол обладал слабой антипролиферативной активностью, а кверцетин значимо не влиял на пролиферацию и апоптоз В-лимфоцитов [41].

Есть сведения о том, что флавоноиды (апигенин, нарингенин) могут эффективно ингибировать Th2-зависимый иммунный ответ в биологической системе *in vivo* [42, 43]. На модели аллергической астмы у мышей нарингенин (пероральное использование) подавлял продукцию ключевых цитокинов Th2-ответа CD4⁺ спленocyтитами, не влияя при этом на их пролиферацию [42], также положительный фармакологический ответ апигенина сопровождался снижением уровня сывороточного IgE, воспалительной инфильтрации бронхиол и переключением иммунного ответа в направлении дифференцировки Th1-лимфоцитов [43].

Флавоноиды проявляли эффективность в подавлении острой реакции трансплантат против хозяина [44] и моделях аутоиммунных заболеваний, воспроизведенных у лабораторных животных. Например, апигенин был эффективным в терапии экспериментальной модели волчанки у мышей, воздействуя на функции различных иммунокомпетентных клеток, участвующих в патогенезе этого заболевания. Этот флавоноид ингибировал функции антигенпрезентирующих клеток, необходимых для активации аутореактивных Т- и В-клеток, подавлял продукцию ИФН γ и ИЛ-17, а также продукцию аутоантител к ядерному антигену [45].

В то же время ряд работ свидетельствуют об иммуностимулирующем действии в условиях организма как самих флавоноидов, так и их метаболитов. Так продукт метаболизма флавоноида дайдзеина эквол при пероральном использовании у овариэктомированных мышей-самок линии Balb/c, сенсibilизированных овалбумином, повышал уровень сывороточного IgE и продукцию ИЛ-13 овалбумин-стимулированными спленocyтитами [46]. Флавоноидная фракция экстракта *Alchornea cordifolia* проявляла адьювантные свойства. Наблюдалась стимуляция пролиферации Т- и В-лимфоцитов и секреции антиген-специфических антител в ответ на иммунизацию овалбумином [47].

Анализ литературных источников демонстрирует, что с каждым годом количество публикаций, в которых авторы сообщают об иммуностимулирующих эффектах полифенольных соединений растительного происхождения, увеличивается. При этом выявляемые эффекты флавоноидов одного и того же класса в отношении им-

мунной системы часто противоречивы и варьируют от стимуляции до супрессии. Возможно несколько объяснений возникающих при исследованиях противоречий:

даже минимальные изменения в структуре отдельных представителей флавоноидов могут приводить к полярным отличиям в их биологической активности;

направленность эффектов флавоноидов зависит от исходного функционального состояния иммунокомпетентных клеток: покоящиеся, активированные, праймированные и т.д.;

значительная пресистемная биотрансформация большинства веществ флавоноидной структуры, которая не позволяет контролировать сывороточные и тканевые уровни этих соединений в моделях *in vivo*.

Последнее может свидетельствовать о том, что эффекты, получаемые при пероральном приеме флавоноидов, опосредуются действием их метаболитов, тогда как при парентеральном введении или в опытах *in vitro* наблюдаются прямые эффекты этих веществ.

Как видно из вышеизложенного, у полифенолов растений класса флавоноидов есть способность влиять, на механизмы как врожденного, так и адаптивного звеньев иммунитета. По-видимому, биологическая активность большинства флавоноидов, в основном, обусловлена их способностью проникать внутрь клеток и блокировать ферменты сигнальных путей и факторы транскрипции, в том числе и вовлеченные в процессы активации, пролиферации и реализации эффекторных функций клеток иммунной системы. Более того, следует отметить, что в ряде случаев авторами приводятся данные о высокой эффективности флавоноидов в экспериментальной терапии модельной иммунопатологии, свидетельствуя о перспективности их как основы для создания новых фармакологических агентов, подавляющих или “регулирующих” иммунный ответ.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. E. Saslow, U. Warek, B. S. Winkel, *J. Biol. Chem.*, **280**(25), 23735 – 23740, (2005).
2. H. Hu, S. Liu, Y. Yang, et al., *Nucleic Acids Res.*, **28**(14), 2784 – 2793 (2000).
3. H. H. Felle, E. Kondorosi, A. Kondorosi, *Plant Physiol.*, **124**(3), 1373 – 1380 (2000).
4. L. Gamet-Payrastre, S. Manenti, M. P. Gratacap, et al., *Gen. Pharmacol.*, **32**(3), 279 – 286 (1999).
5. E. B. Yang, K. Zhang, L. Y. Cheng, P. Mack, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **245**(2), 435 – 438 (1998).
6. C. C. Chen, M. P. Chow, W. C. Huang, et al., *Mol. Pharmacol.*, **66**(3), 683 – 693 (2004).
7. K. Hirao, H. Yumoto, T. Nakanishi, et al., *Life Sci.*, **86**(17 – 18), 654 – 660 (2010).
8. X. Xue, X. J. Qu, Y. Yang, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **403**(3 – 4), 398 – 404 (2010).
9. M. Chen, H. Gu, Y. Ye, et al., *Food Chem. Toxicol.*, **48**(10), 2980 – 2987 (2010).
10. P. Zhou, S. Gross, J. H. Liu, et al., *FASEB J.*, **24**(12), 4722 – 4732 (2010).
11. S. R. Chen, X. Z. Xu, Y. H. Wang, et al., *Biol. Pharm. Bul.*, **33**(8), 1307 – 1313 (2010).
12. K. M. Lee, K. W. Lee, S. K. Jung, et al., *Biochem. Pharmacol.*, **80**(12), 2042 – 2049 (2010).

13. P. C. Hollman and M. B. Katan, *Biomed. Pharmacother.*, **51**, 305 – 310 (1997).
14. K. M. Henkels, K. Frondorf, M. E. Gonzalez-Mejia, et al., *FEBS Lett.*, **585**(1), 159 – 166 (2011).
15. E. Melgarejo, M. A. Medina, F. Sanchez-Jimenez, J. L. Urdiales, *Br. J. Pharmacol.*, **158**(7), 1705 – 1712 (2009).
16. M. Egger, A. G. Beer, M. Theurl, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **598**(1 – 3), 104 – 111 (2008).
17. Y. C. Xie, X. W. Dong, X. M. Wu, et al., *Int. Immunopharmacol.*, **9**(2), 194 – 200 (2009).
18. S. Zeng, G. Q. Luo, D. Y. Liu Zhong, *Yao Cai.*, **29**(3), 260 – 262 (2006).
19. K. Zen, T. A. Reaves, I. Soto, Y. J. Liu, *Immunol. Methods.*, **309**(1 – 2), 86 – 98 (2006).
20. T. L. Hwang, G. L. Li, Y. H. Lan, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **46**(4), 520 – 528 (2009).
21. A. Dávalos, G. de la Peña, C. C. Sánchez-Martín, et al., *Br. J. Nutr.*, **102**(8), 1125 – 1135 (2009).
22. S. J. Park, H. S. Youn, *Phytochemistry*, **71**(14 – 15), 1736 – 1740 (2010).
23. J. K. Lee, S. Y. Kim, Y. S. Kim, et al., *Biochem. Pharmacol.*, **77**(8), 1391 – 1400 (2009).
24. Y. J. Kim, H. Ko, J. S. Park, et al., *Int. Immunopharmacol.*, **10**(9), 1127 – 1134 (2010).
25. C. Nicholas, S. Batra, M. A. Vargo, et al., *J. Immunol.*, **179**(10), 7121 – 7127 (2007).
26. F. Yang, W. J. Villiers, C. J. McClain, G. W. Varilek, *J. Nutr.*, **128**, 2334 – 2340 (1998).
27. R. L. Hornung, H. A. Young, W. J. Urba, R. N. Wiltrout, *J. Natl. Cancer Inst.*, **80**, 1226 – 1231 (1988).
28. T. Harada, M. Arii, R. F. Tsuji, et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**(7), 1769 – 1772 (2007).
29. N. Dijsselbloem, S. Goriely, V. Albarani, et al., *J. Immunol.*, **178**, 5048 – 5057 (2007).
30. S. C. Ahn, G. Y. Kim, J. H. Kim, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **313**(1), 148 – 155 (2004).
31. J. M. Trevisan, Y. Lu, D. Atluru, et al., *J. Immunol.*, **145**, 3223 – 3230 (1990).
32. S. Y. Namgoong, K. H. Son, H. W. Chang, et al., *Life Sci.*, **54**, 313 – 320 (1993).
33. I. Lang, G. Y. Deak, K. Nekam, et al., *Acta. Med. Hung.*, **45**, 287 – 295 (1988).
34. C. Morishima, M. C. Shuhart, C. C. Wang, et al., *Gastroenterology*, **138**(2), 671 – 681 (2010).
35. S. Atluru and D. Atluru, *Transplantation*, **51**, 448 – 450 (1991).
36. P. S. Chauhan, N. K. Satti, K. A. Suri, et al., *Chem. Biol. Interact.*, **185**(1), 66 – 72 (2010).
37. J. Y. Lee, J. H. Lee, J. H. Park, et al., *Int. Immunopharmacol.*, **9**(5), 632 – 638 (2009).
38. J. Wang, Q. Zhang, S. Jin, et al., *Maturitas*, **59**(4), 405 – 412 (2008).
39. J. C. Cambier, D. C. Morrison, M. M. Chien, K. R. Lehmann, *J. Immunol.*, **146**, 2075 – 2082 (1991).
40. J. Cumella, H. Faden, E. J. Middleton, *Allergy Clin. Immunol.*, **77**, 131 (1987).
41. S. J. Zunino, D. H. Storms, *J. Nutr.*, **139**, 1603 – 1608 (2009).
42. C. Iwamura, K. Shinoda, M. Yoshimura, et al., *Allergology International*, **59**, 67 – 73 (2010).
43. R. R. Li, L. L. Pang, Q. Du, et al. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, **32**(3), 364 – 370, (2010).
44. I. Okamoto, K. Iwaki, S. Koya-Miyatal *Clin. Immunol.*, **103**(2), 132 – 144 (2002).
45. H. K. Kang, D. Ecklung, M. Liu, S. K. Datta, *Arthritis Res. Ther.*, **11**(2), R59 (2009).
46. T. Sakai, S. Furoku, M. Nakamoto, et al., *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **56**, 72 – 76 (2010).
47. C. S. Nworu, C. O. Esimone, M. Tenbusch, et al., *Immunol. Invest.*, **39**(2), 132 – 158 (2010).

Поступила 30.10.14

FLAVONOIDS AS POTENTIAL IMMUNOSUPPRESSIVE AGENTS AFFECTING INTRACELLULAR SIGNALING PATHWAYS (A REVIEW)

S. I. Pavlova^{1,3}, D. Z. Albegova², Y. S. Vorob'eva², O. S. Laptev^{1,2}, and I. G. Kozlov^{1,2}

¹ D. Rogachev Federal Research and Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, 117997 Russia

² N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia

³ I. N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, 428015 Russia

Flavonoids are a large group of polyphenolic compounds, which are present in almost all higher plants. In recent years, studies demonstrated a wide range of biological effects of these compounds under both normal and various pathological conditions. Apparently, the biological activity of most flavonoids is mainly due to their ability to penetrate into cells and block enzymes of signaling pathways and transcription factors, including processes involved in the activation, proliferation, and realization of the effector functions of cells of the immune system. Moreover, it should be noted that, in some cases, data show high efficiency of flavonoids in experimental therapy of model immune pathologies, suggesting their good prospects as a basis for the creation of new pharmacological agents that suppress or “normalize” the immune response.

Keywords: flavonoids; immunotropic effects; intracellular signaling molecules.