

УДК 576.5:630*813.2:582.29

Детерминанты цитотоксических и фотосенсибилизирующих свойств экстрактов из лишайников в отношении опухолевой линии MCF-7

М.В. МАТВЕЕНКОВ

Приведен количественный цитотоксический и фотомодифицирующий профиль для тридцати пяти экстрактов, полученных из пяти распространенных видов лишайников Юго-Востока Беларуси. Выявленный цитотоксический эффект ($IC_{50} < 30$ мкг/мл) выявлен у одиннадцати экстрактов. Почти все экстракты обладали фотосенсибилизационными свойствами и были сгруппированы по силе воздействия, а также по наличию концентрационно-зависимых эффектов. Методом множественной регрессии показано, что цитотоксические свойства экстрактов, в большей степени, обусловлены применяемыми для их получения растворителями. Фотосенсибилизирующие свойства экстрактов почти в равной мере обусловлены всеми экспериментальными факторами. Наблюдается достоверная тенденция к усилению их сенсибилизирующих свойств по мере роста применяемой концентрации и использования для их получения растворителей неполярной природы.

Ключевые слова: экстракты из лишайников, культура карциномы человека (MCF-7), цитотоксичность, доза ультрафиолета, фотосенсибилизация, множественная регрессия.

A quantitative cytotoxic and photomodifying profile for thirty-five extracts obtained from five common lichen species in the South-East of Belarus is given. A pronounced cytotoxic effect ($IC_{50} < 30$ μ g/ml) was detected in eleven extracts. Almost all the extracts had photosensitizing properties and were grouped according to the strength of the effect, as well as the presence of concentration-dependent effects. The method of multiple regression showed that the cytotoxic properties of the extracts are largely determined by the solvents used to obtain them. The photosensitizing properties of the extracts are almost equally due to all experimental factors. There is a significant trend towards an increase in their sensitizing properties as the applied concentration increases and the use of non-polar solvents for their preparation.

Keywords: lichen extracts, human cancer cell line (MCF-7), cytotoxicity, ultraviolet dose, photosensitivity, multiple regression.

Введение. В последнее время активно разрабатывается научное обоснование возможности применения экстрактов из лишайников в качестве соединений с фотозащитными свойствами. В пользу этого говорят исследования спектра их фотопоглощения и структурных особенностей ряда полифункциональных ароматических соединений [1], [2]. Описана их способность снижать поступившие на кожу дозы ультрафиолета, проявлять фотозащитные биологические эффекты (антиоксидантные, антиапоптотические, противовоспалительные и т. д.) [3]–[5]. Вместе с тем существуют работы, указывающие на возможность данных веществ усиливать повреждающее действие ультрафиолета [6]–[8]. Эта слабо изученная область является теоретической перспективной для изучения возможности изменения фоточувствительности опухолевых клеток. Таким образом, представляется актуальным и значимым дать подобным эффектам количественную оценку. Варьирование экспериментальных условий использования экстрактов позволяет обозначить важные аспекты возможного биотехнологического применения лишайниковой биомассы. Существует необходимость установить влияние на фотомодифицирующие свойства экстрактов: условий экстрагирования, доз ультрафиолета, концентрационно-зависимых эффектов и, наконец, видовой и эколого-географической принадлежности лишайника. Выводы, полученные в результате широкого и систематичного скрининга свойств экстрактов, могут способствовать решению как прикладных задач, так и являться теоретической основой для разработки новых подходов в способах коррекции жизнеспособности опухолевых клеток.

Цель работы: оценка влияния экспериментальных факторов на цитотоксические и фотомодифицирующие характеристики различных фракций веществ, выделенных из пяти распространенных видов лишайников Юго-Востока Беларуси – *Cladonia arbuscula*, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Ramalina pollinaria*, *Xanthoria parietina* – в отношении опухолевой линии клеток MCF-7.

Методы исследований. *Получение экстрактов лишайников.* Биомассу лишайников *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.,

Ramalina pollinaria (Westr.) Ach. и *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. отбирали в пригородных лесах г. Гомеля на типичных для каждого вида субстратах. Талломы высушивали до воздушно-сухого состояния, измельчали. Навески измельченной биомассы экстрагировали ацетоном, бензолом, гексаном, метанолом, хлороформом, этанолом и этилацетатом в аппарате Сокслета. Растворитель удаляли с помощью ротационного испарителя. Полученные экстракты хранили в сухом темном месте при температуре -18°C.

Подготовка стабильных клеточных линий. Использовали культуру опухолевых клеток карциномы молочной железы человека MCF-7. Культура клеток была получена в НИЛ физиологии кафедры физиологии человека и животных Белорусского государственного университета. Режим культивирования стандартный: 37°C, 90 % влажности воздуха с 5 % содержанием CO₂, коэффициент субкультивирования 1/5. Состав среды: DMEM/F-12, 11039 GIBCO; 100 Ед/мл пенициллин; 100 мкг/мл стрептомицин; 0,25 мкг/мл амфотерицин-В; 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, HiCloneInc.

Инкубация клеток с экстрактами. Культуру клеток преинкубировали в 96-и луночных планшетах до достижения ими фазы экспоненциального роста. Затем вносили в лунки планшета раствор экстракта, серийно разведенный в питательной среде, в диапазоне концентраций 200–0,78 (мкг/мл). По прошествии 48 ч. оценивали жизнеспособность клеток по методу, описанному ниже. Подробно схема инкубации описана в статье [9].

Для определения модификации фототоксических эффектов после периода преинкубации в планшете культуру клеток пошагово экспонировали в каждом ряду лунок планшета заданное время на поверхности стеклянного УФ-фильтра системы гель-документации Chemidoc (Biorad), предварительно добавив в питательную среду растворы экстрактов лишайников в концентрациях 2,5; 5,0 и 10,0 мкг/мл. Использовали параметры и схему облучения, описанные в статье [10]. Жизнеспособность клеток определяли по методу, описанному ниже.

Жизнеспособность клеточных популяций в эксперименте определяли с помощью МТТ-теста, определяющего метаболическую активность клеток – тест на скорость восстановления 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ, M5655, Sigma) [11].

Анализ выживаемости клеток в экспериментальных условиях проводили с помощью аппроксимации полученных зависимостей «доза-эффект» или «концентрация-эффект» уравнением Хилла с варибельным коэффициентом наклона. Для статистической проверки гипотез о различии действия отдельных экстрактов сравнивали параметры экспериментальных кривых выживаемости клеток сопоставлением регрессионных моделей на вложенность методом F-теста [12]. Анализ результатов исследования производили с помощью программных продуктов Graph Pad Prism (Version 8.01) и Microsoft Excel. Для оценки связи экспериментальных факторов и исследуемых свойств экстрактов использовали метод множественной регрессии, с кодировкой категориальных независимых переменных. Анализ результатов исследования производили с помощью программных продуктов GraphPad Prism (Version 8.01) и Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Количественно токсичность экстрактов определяли по концентрации, ингибирующей жизнеспособность клеток в эксперименте на 50 % (IC₅₀, мкг/мл), полученной на основании аппроксимации кривой ингибирования жизнеспособности клеток. Аналогичным образом определяли величины ингибирования 10 % и 90 % жизнеспособности клеток. Относили экстракты к цитотоксичным на основании критерия рекомендованным Национальным институтом онкологии США (NCI) [13]. В результате токсичными экстрактами в отношении изучаемой опухолевой культуры клеток можно считать: ацетоновый, гексановый, хлороформный, этилацетатный из вида *Cladonia arbuscula*; ацетоновый и гексановый из *Evernia prunastri*; ацетоновый и этанольный экстракт из *Hypogymnia physodes*; хлороформный из вида *Ramalina pollinaria*; хлороформный и этилацетатный из *Xanthoria parietina* (таблица 1).

Таблица 1 – Различные аналитические величины цитотоксического эффекта экстрактов из лишайников в линии MCF-7, оцененные с помощью МТТ-теста после 48 часов инкубации

Экстракты		IC ₁₀ , мкг/мл	IC ₅₀ , мкг/мл	IC ₉₀ , мкг/мл
<i>Cladonia arbuscula</i>	ацетон	<1,00	4,18 ± 0,46	5,89
	бензол	<1,00	54,35 ± 7,28	155,30
	гексан	7,24	24,46 ± 1,57	79,47

Окончание таблицы 1

	метанол	6,89	46,92 ± 8,20	>200
	хлороформ	1,66	9,50 ± 0,63	>200
	этанол	<1,00	59,67 ± 12,45	45,04
	этилацетат	2,75	14,81 ± 1,11	>200
<i>Evernia prunastri</i>	ацетон	<1	5,62 ± 1,08	11,71
	бензол	<1	51,36 ± 3,73	93,74
	гексан	14,26	29,71 ± 1,97	59,88
	метанол	25,39	102,40 ± 46,99	>200
	хлороформ	7,2	45,07 ± 8,97	92,34
	этанол	<1	64,13 ± 8,23	>200
<i>Hypogymnia physodes</i>	этилацетат	22,86	57,72 ± 4,80	87,68
	ацетон	1,97	4,08 ± 0,79	5,67
	бензол	<1	37,55 ± 3,73	99,20
	гексан	17,47	35,08 ± 2,66	68,36
	метанол	33,79	70,84 ± 4,40	136,3
	хлороформ	9,093	32,77 ± 3,55	121,00
<i>Ramalina pollinaria</i>	этанол	4,67	7,07 ± 0,34	8,37
	этилацетат	9,019	36,60 ± 3,53	150,30
	ацетон	21,89	49,92 ± 4,15	77,14
	бензол	1,12	34,19 ± 3,433	91,47
	гексан	17,29	37,64 ± 2,72	79,78
	метанол	36,01	71,97 ± 8,44	136,40
<i>Xanthoria parietina</i>	хлороформ	<1	10,40 ± 1,096	29,85
	этанол	11,44	58,46 ± 6,48	156,20
	этилацетат	<1	45,96 ± 8,041	117,10
	ацетон	49,04	102,20 ± 9,35	>200
	бензол	5,31	30,66 ± 4,62	>200
	гексан	22,58	69,95 ± 8,44	>200
	метанол	19,41	108,60 ± 26,29	>200
	хлороформ	<1	14,21 ± 2,96	80,79
	этанол	23,85	81,98 ± 9,95	>200
	этилацетат	<1	20,05 ± 2,96	55,67

Оценивали влияние экспериментальных факторов («вид» и «экстрагент») на количественный показатель цитотоксичности экстрактов (IC_{50} , мкг/мл) методом множественной регрессии. На основании коэффициента множественной регрессии, растворители, взятые для экстракции лишайников, обуславливали 38 % ($R^2 = 0,38$; при $p = 0,0268$) вариации количественного показателя цитотоксичности.

По показателям бета-коэффициентов извлечения экстракты, полученные с помощью хлороформа, обладают на 21,33 мкг/мл более низким значением полуингибирующей концентрации ($\beta = -21,33$ мкг/мл; $p = 0,0014$). Метанольные экстракты, наоборот, менее токсичны и имеют на 36,43 мкг/мл более высокую концентрацию половинного ингибирования клеток ($\beta = 36,43$ мкг/мл; $p = 0,0469$). Экстрагирование с помощью ацетона, гексана, этанола и этилацетата не вносит значимых и достоверных изменений в цитотоксические свойства экстрактов (рисунок 1). Видовая принадлежность лишайника, взятого для получения экстракта, достоверно не влияет на изменение их цитотоксических свойств ($R^2 = 0,17$; при $p = 0,22$).

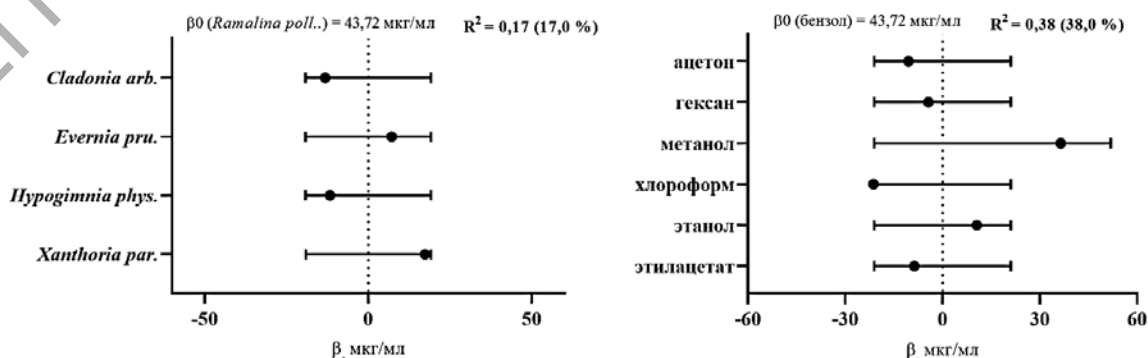


Рисунок 1 – Влияние различных экспериментальных факторов на цитотоксические свойства экстрактов

Таким образом, можно говорить, что в значительной степени цитотоксические свойства экстрактов обуславливаются применяемыми для их получения растворителями. Изменение данных свойств хорошо соотносится с природой экстрагента. Для полярных протонных растворителей (метанол и этанол) характерно получение в среднем менее токсичных экстрактов. Применение полярных апротонных и неполярных растворителей (ацетон, бензол, гексан, хлороформ, этилацетат) позволяет получить субстанции с повышенными токсическими свойствами.

Оценивали способность экстрактов усиливать повреждающее действие ультрафиолета на клетки через фактор фотосенсибилизации (ФФ):

$$ФФ = \frac{ID_{50}(\text{опыт})}{ID_{50}(\text{контроль})},$$

где ID_{50} (опыт) – величина полулетальной дозы облучения клеток при добавлении в питательную среду экстрактов лишайников; ID_{50} (контроль) – то же, без добавления экстрактов лишайников.

Для этого облучали клетки градиентом доз, вызывающих суб-, полу и летальные эффекты. Аппроксимировали полученные кривые выживаемости для определения полулетальной дозы ультрафиолета в отношении клеток, культивируемых с экстрактами из лишайников и без них. По критерию отсутствия выраженных токсических свойств в большинстве случаев были выбраны следующие концентрации – 2,5 мкг/мл, 5 мкг/мл и 10 мкг/мл.

Некоторые экстракты проявили способность полностью подавлять жизнеспособность клеток при облучении их самыми малыми дозами ультрафиолета. В данном случае сложно оценить реальную полулетальную дозу излучения для опытной группы, поэтому она принималась за теоретически минимальную – 0,02 мДж/см².

Большинство экстрактов обладали концентрационно-зависимыми фотосенсибилизирующими свойствами. Из них, как наиболее сильные фотосенсибилизаторы, можно охарактеризовать следующие экстракты: ацетоновые, этилацетатные, гексановые, бензольные и хлороформные, выделенные из видов *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Ramalina pollinaria*; ацетоновый из *Ramalina pollinaria* и бензольный из *Cladonia arbuscula*. В концентрации 2,5 мкг/мл наблюдается слабый фотозащитный эффект (ФФ = 0,82 у бензольного экстракта из *Hypogymnia physodes*), либо усиление действие ультрафиолета до 2,83 раз – гексановый из *Ramalina pollinaria*. В концентрации 5 мкг/мл усиливается летальное действие излучения вплоть до 31,17 раз – гексановый из *Ramalina pollinaria*. Дальнейшее увеличение концентрации перечисленных экстрактов способствует усилению повреждающих свойств ультрафиолетового излучения до 254,31 раз (гексановый и ацетоновый из *Hypogymnia physodes*; гексановые, бензольные и хлороформные из *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria*, бензольный из *Cladonia arbuscula*) (таблица 2).

Более слабым сенсibiliзирующим действием обладали экстракты, выделенные из биомассы лишайников при помощи метанола и этанола. В концентрации 2,5 мкг/мл ряд извлечений данной группы не способен оказывать какого-либо достоверного эффекта: метанольные из *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes* и *Xanthoria parietina*, а также этанольные из *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria*. Либо же проявляет сравнительно слабый эффект – ФФ = 1,35–2,24 (у метанольных из *Ramalina pollinaria* и *Cladonia arbuscula*, а также этанольных из *Cladonia arbuscula* и *Xanthoria parietina*).

Таблица 2 – Величины модификации цитотоксического действия ультрафиолета экстрактами из лишайников в отношении опухолевых клеток MCF-7

Экстракты		ID_{50} , мДж/см ²		
		ФИЦ		
1		2,5 мкг/мл	5 мкг/мл	10 мкг/мл
		2	3	4
<i>Cladonia arbuscula</i>	ацетон	0,02	0,02	0,02
		254,31	254,31	254,31
	бензол	2,36 ± 0,61	1,50 ± 0,46	0,02
		2,50	3,94	254,31
	гексан	0,02	0,02	0,02
254,31		254,31	254,31	
метанол	3,79 ± 0,21	2,72 ± 0,39	0,26 ± 0,077	
	1,56	2,17	22,31	
хлороформ	0,02	0,02	0,02	
	254,31	254,31	254,31	

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5
	этанол	4,39 ± 0,57 1,35	2,37 ± 0,82 2,49	0,33 ± 1,29 17,89
	этилацетат	0,02 254,31	0,02 254,31	0,02 254,31
<i>Evernia prunastri</i>	ацетон	4,25 ± 0,59 1,39	3,99 ± 0,58 1,48	2,75 ± 0,81 2,15
	бензол	4,03 ± 0,36 1,47	1,34 ± 0,11 4,41	0,02 254,31
	гексан	4,98 ± 0,40 1,18	0,28 ± 0,078 20,80	0,02 254,31
	метанол	5,36 ± 0,30 1,10	5,33 ± 0,35 1,11	4,21 ± 0,35 1,40
	хлороформ	3,30 ± 0,26 1,79	1,41 ± 0,11 4,18	0,02 254,31
	этанол	6,67 ± 0,36 0,88	5,50 ± 0,32 1,07	3,78 ± 0,42 1,56
	этилацетат	5,62 ± 0,32 1,05	3,58 ± 0,37 1,65	0,58 ± 0,13 10,25
<i>Hypogymnia physodes</i>	ацетон	3,40 ± 0,99 1,73	1,58 ± 0,36 3,73	0,02 254,31
	бензол	7,21 ± 0,50 0,82	5,11 ± 0,66 1,16	0,21 ± 0,097 28,42
	гексан	2,90 ± 0,1 2,03	1,24 ± 0,35 4,76	0,02 254,31
	метанол	4,82 ± 0,30 1,22	4,82 ± 0,28 1,22	2,10 ± 0,24 2,81
	хлороформ	3,88 ± 0,30 1,52	1,64 ± 0,18 3,59	0,03 ± 0,016 189,04
	этанол	4,96 ± 0,31 1,19	2,56 ± 0,31 2,30	0,44 ± 0,12 13,41
	этилацетат	4,00 ± 0,37 1,48	2,30 ± 0,37 2,56	0,10 ± 0,043 57,56
<i>Ramalina pollinaria</i>	ацетон	3,64 ± 0,30 1,62	2,07 ± 0,18 2,85	0,59 ± 0,10 9,99
	бензол	3,33 ± 0,38 1,77	0,35 ± 0,10 17,10	0,02 254,31
	гексан	2,09 ± 2,83	0,19 ± 0,068 31,17	0,02 254,31
	метанол	4,05 ± 0,28 1,46	3,79 ± 0,21 1,56	0,55 ± 0,082 10,71
	хлороформ	3,45 ± 0,24 1,71	1,26 ± 0,11 4,70	0,02 254,31
	этанол	5,62 ± 0,40 1,05	5,76 ± 0,39 1,02	2,83 ± 0,28 2,08
	этилацетат	3,28 ± 0,30 1,80	2,07 ± 0,28 2,85	0,07 ± 0,04 84,23
<i>Xanthoria parietina</i>	ацетон	0,68 ± 0,38 8,67	0,33 ± 0,14 17,80	0,21 ± 0,11 27,76
	бензол	0,25 ± 0,059 23,72	0,16 ± 0,042 37,01	0,21 ± 0,05 28,74
	гексан	1,69 ± 1,13 3,49	1,37 ± 1,64 4,30	0,97 ± 1,41 6,11
	метанол	4,94 ± 0,57 1,19	4,02 ± 0,44 1,47	2,88 ± 0,36 2,05
	хлороформ	0,14 ± 0,053 43,29	0,07 ± 0,032 89,86	0,03 ± 0,026 172,46
	этанол	2,63 ± 0,26 2,24	1,74 ± 0,21 3,38	0,94 ± 0,14 6,25
	этилацетат	0,93 ± 0,15 6,34	0,54 ± 0,10 10,90	0,12 ± 0,051 47,93

Примечание: жирным шрифтом отмечено достоверное отличие полулетальной дозы от контрольной ($ID_{50} = 5,93 \pm 0,29$ мДж/см²), при $p = 0,05$.

Двух- и четырехкратное увеличение концентрации позволяет выявить усиление их фотосенсибилизационных свойств. Минимальный эффект у метанольного экстракта из *Ramalina pollinaria* в концентрации 5 мкг/мл (ФФ = 1,56), максимальный – у метанольного из *Cladonia arbuscula* в концентрации 10 мкг/мл (ФФ = 22,31) (таблица 2).

Выделена группа экстрактов, фотосенсибилизирующее действие которых не зависит от вносимой в питательную среду концентраций: экстракты из *Cladonia arbuscula* и *Xanthoria parietina*. Полученные субстанции способны, независимо от концентрации, полностью подавлять жизнеспособность клеток при их облучении в самых малых дозах ультрафиолетового излучения – экстракты из *Cladonia arbuscula* (усиление эффекта в 254,31 раз). Экстракты из *Xanthoria parietina* обладают менее выраженными, но достаточно сильными фотосенсибилизирующими свойствами, усиливая действие излучения на клетки в 3,5–172,5 раз, при этом наблюдаемый эффект также не зависит от применяемых концентраций (таблица 2).

По результатам множественной регрессии, фотосенсибилизирующие свойства экстрактов почти в равной степени зависят от вида лишайника (29,4 %; $R = 0,294$; при $p = 0,0001$), применяемого растворителя (34,2 %; $R = 0,342$; при $p = 0,0001$) и вносимой концентрации (36,6 %; $R = 0,366$; при $p = 0,0001$). Анализ показателей бета-коэффициентов регрессии позволил составить следующий ряд убывания фотосенсибилизирующих свойств различных экстрактов: хлороформные (-4,87 мДж/см² при $p = 0,0001$) > гексановые (-4,84 мДж/см² при $p = 0,0001$) > этилацетатные (-4,34 мДж/см² при $p = 0,0001$) > ацетоновые (-4,32 мДж/см² при $p = 0,0001$) > бензольные (-4,15 мДж/см² при $p = 0,0001$) > этанольные (-2,521 мДж/см² при $p = 0,0116$) > метанольные (-2,313 мДж/см² при $p = 0,0203$). Аналогичный ряд составлен для используемых для экстракции видов лишайников: *Cladonia arbuscula* (-5,044 мДж/см² при $p = 0,0001$) > *Xanthoria parietina* (-4,71 мДж/см² при $p = 0,0001$) > *Ramalina pollinaria* (-3,75 мДж/см² при $p = 0,0002$) > *Hypogymnia physodes* (-3,35 мДж/см² при $p = 0,0009$) > *Evernia prunastri* (-2,70 мДж/см² при $p = 0,0067$). Увеличение концентрации, в среднем снижает полулетальную дозу для клеток при использовании всех экстрактов на -2,653 ($p = 0,0032$), -3,843 ($p = 0,0001$), -5,177 ($p = 0,0001$) мДж/см² – для 2,5 5 и 10 мкг/мл соответственно (рисунок 2).

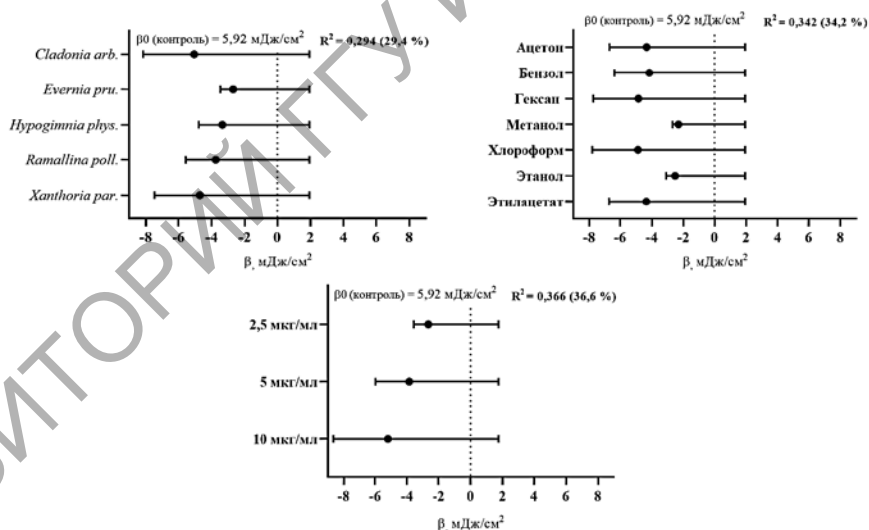


Рисунок 2 – Влияние различных экспериментальных факторов на фотомодификационные свойства экстрактов

Полученные данные говорят о способности принятых к исследованию экстрактов подавлять жизнеспособность опухолевой культуры клеток как за счет собственных цитотоксических свойств, так и посредством усиления повреждающего действия ультрафиолетового излучения. Определены факторы, детерминирующие цитотоксические и фотомодифицирующие свойства экстрактов, что может являться теоретическим обоснованием для получения субстанций с заданными свойствами. Использование малых концентраций экстрактов в оценке их фотомодифицирующих свойств, по всей видимости, позволяет получить некоторые концентрации основных метаболитов, не обладающих собственной токсичностью, но при этом усиливающих повреждающее действие ультрафиолетового излучения. При этом, фотомодифицирующее действие

субстанций почти полностью обуславливается экспериментальными условиями получения и применения экстракта. Цитотоксичность экстрактов детерминируется подобными факторами в меньшей степени, однако их влияние на свойства экстрактов все еще достаточно велико.

Заключение. Выявлены цитотоксические эффекты в отношении опухолевой линии клеток человека MCF-7 у следующих экстрактов из лишайников: ацетоновый, гексановый, хлороформный, этилацетатный из вида *Cladonia arbuscula*; ацетоновый и гексановый из *Evernia prunastri*; ацетоновый и этанольный экстракт из *Hypogymnia physodes*; хлороформный из вида *Ramalina pollinaria*; хлороформный и этилацетатный из *Xanthoria parietina*.

Все принятые к исследованию экстракты продемонстрировали разную фотосенсибилизирующую активность в отношении линии карциномы человека. Наиболее сильную сенсибилизирующую активность проявила группа экстрактов (ацетоновые, этилацетатные, гексановые, бензольные и хлороформные), выделенных из пяти исследуемых видов лишайников, способных уменьшать полудлетальную дозу ультрафиолета в 2,83–254,31 раз. Метанольные и этанольные экстракты проявили более слабую активность, усиливая воздействие излучения на клетки до 22,31 раз.

Выявлена обусловленность цитотоксических свойств экстрактов от используемых для их получения экстрагентов на 38 %. Фотосенсибилизирующие свойства экстрактов почти полностью детерминируются экспериментальными факторами: взятым для экстракции видом лишайника на 29,4 %, режимом экстракции на 34,2 %, применяемой концентрацией на 36,6 %. Обобщая результаты множественной регрессии, можно сделать вывод о преобладании фотосенсибилизирующих свойств в экстрактах, полученных с помощью неполярных или полярных апротонных растворителей. А также о повышении фотосенсибилизирующих свойств экстрактов с ростом их концентрации в питательной среде.

Литература

1. Huneck, S. Identification of lichen substances / S. Huneck, I. Yoshimura // Identification of lichen substances. – Springer, 1996. – P. 11–123.
2. UV-protectant metabolites from lichens and their symbiotic partners / K.-H. Nguyen [et al.] // Natural product reports. – 2013. – Vol. 30, № 12. – P. 1490–1508.
3. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review / M. Radice [et al.] // Fitoterapia. – 2016. – Vol. 114. – P. 144–162.
4. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens / F. Rancan [et al.] // Journal of Photochemistry and Photobiology. – 2002. – Vol. 68 (2-3). – P. 133–139.
5. Ranković, B. Lichen secondary metabolites: bioactive properties and pharmaceutical potential / B. Ranković. – New York ; Cham : Springer International Publishing, 2015. – 202 p.
6. Rojas, J. L. Metabolites with antioxidant and photo-protective properties from *Usnea roccellina* Motyka, a lichen from Colombian Andes / J. L. Rojas, M. Díaz-Santos, N. A. Valencia-Islands // Pharmaceutical and Biosciences Journal. – 2015. – № 3. – P. 18–26.
7. Lichens – Photophysical studies of potential new sunscreens / F. Boehm [и др.] // Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology. – 2009. – Vol. 95, № 1. – P. 40–45.
8. Evaluation of the sunscreen lichen substances usnic acid and atranorin / M. Varol [et al.] // Biocell. – 2015. – Vol. 39, № 1. – P. 25–31.
9. Храменкова, О. М. Цитотоксическая активность экстрактов из четырех видов лишайников в отношении культур опухолевых клеток / О. М. Храменкова, М. В. Матвеенков // Журнал Белорусского государственного университета. Экология. – 2018. – № 2. – С. 88–98.
10. Храменкова, О. М. Фотозащитная активность экстрактов из пяти видов лишайников в отношении кератиноцитов человека (HaCAT) / О. М. Храменкова, М. В. Матвеенков // Журнал Белорусского государственного университета. Экология. – 2018. – № 4. – С. 52–62.
11. Van Meerloo, J. Cell sensitivity assays : the MTT assay / J. Van Meerloo, G. J. L. Kaspers, J. Cloos. // Cancer cell culture / A. Cree Lan. – Totowa, 2011. – Ch. 20. – P. 237–245.
12. Motulsky, H. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression : a practical guide to curve fitting / H. Motulsky, A. Christopoulos. – Oxford University Press, 2004. – 351 p.
13. Mitrović, T. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species / T. Mitrović, S. Stamenković, V. Cvetković // International Journal of Molecular Sciences. – 2011. – Vol. 12, № 8. – P. 5428–5448.