УДК 615.322:581.154:577.114:615.277.3

ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ α(1,2)-l-рамно-α(1,4)-d-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L.

О.В. Неупокоева[1], *К.А. Лопатина*[1, 2], *О.Л. Воронова*[1], *Е.А. Сафонова*[1], *Е.П. Зуева*[1, 2], *А.А. Чурин*[1]

[1] НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (634028, г. Томск, пр-т Ленина, 3),
[2] Национальный исследовательский Томский государственный университет (634050, г. Томск, пр-т Ленина, 36)

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster, соматический мозаицизм.*

MUTAGENIC CHARACTERISTICS RESEARCH OF α(1,2)-l-ramno-α(1,4)-d-galactopiranoziluronan *Acorus calamus* L.

O.V. Neupokoeva[1], K.A. Lopatina[1, 2], O.L. Voronova[1], E.A. Safonova[1], E.P. Zueva[1], A.A. Churin[1]

[1] *Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg (3 Lenina Ave. Tomsk 634028 Russian Federation),* [2] *National Research Tomsk State University (36 Lenina Ave. Tomsk 634050 Russian Federation)*

Background. Toxic testing of new pharmacological substances is an obligatory part of preclinical drug development. Nowadays RIPRM named E.D. Goldberg study a medicine based α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана from rhizomes *Acorus calamus* L.

Methods. Somatic mosaicism were tested in Drosophila melanogaster. Mutant bristles of heterozygous female of first generation phenotype singed were counted as well spots and bristles on the bodies of phenotype yellow after breeding them in the environment with adding of the studied medicine, concentration 4 and 6.25 %.

Results. Authentic differences were not detected in experimental groups in females compared with control groups.

Conclusions. A(1,2)-L-ramno-α(1,4)-D-galactopiranoziluronan *Acorus calamus* L. does not display mutagenic characteristics.

Keywords: *Drosophila melanogaster, somatic mosaicism.*

Pacific Medical Journal, 2015, No. 2, p. 22–23.

В настоящее время в НИИФиРМ имени Е.Д. Гольдберга проводится изучение лекарственного средства (ЛС) на основе α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана из корневищ аира болотного *Acorus calamus* L. в экспериментах были установлены антиметастатические, антибластомные, иммуномодулирующие свойства, а также способность повышать эффективность химиотерапии перевиваемых опухолей у животных за счет снижения токсичного воздействия на кроветворную систему, кишечник и печень. На мышах и крысах с перевиваемыми опухолями показано, что противоопухолевое и антиметастатическое действия данного препарата объясняются его способностью снижать токсическое влияние цитостатиков на здоровые клетки и ткани [6, 7].

Показано защитное и стимулирующее действие этого лекарственного средства на систему крови мышей с карциномой легких Льюис в условиях терапии паклитакселом. Гемостимулирующий эффект данного препарата сравним с таковым у нейпогена – рекомбинантного колониестимулирующего фактора. Защитное действие α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана на эпителий тонкой кишки в условиях терапии 5-фторурацилом проявлялось в повышении митотической активности в криптах и увеличении количества клеток на ворсинках, что свидетельствовало об усилении процессов репаративной регенерации. Установлена способность исследуемого данного лекарственного средства уменьшать активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс с карциносаркомой Уокер-256, повышенную в результате введения циклофосфана. Описанный эффект, в основе которого лежит улучшение функционального состояния печени, превосходит таковой у фосфолипидного препарата «Эссенциале Н» [2].

Показано также, что α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронан при изолированном введении и на фоне цитостатической иммуносупрессии стимулирует функциональную активность клеток лимфоузлов по отношению к опухолевым клеткам. Одним из механизмов повышения эффективности противоопухолевого и антиметастатического действия цитостатиков здесь может быть активация Т-лимфоцитов – эффекторов специфического иммунного ответа. На модели экспериментального карциногенеза доказано и гиполипидемическое действие исследуемого лекарственного средства: установлено снижение концентрации липидов в сыворотке крови животных с перевиваемыми опухолями, повышенной в результате применения циклофосфана [2].

Для оценки безопасности новых фармакологических препаратов на этапе доклинических исследований проводится изучение мутагенности с помощью комплекса методик на различных тест-объектах, согласно современным рекомендациям [4, 5]. Установлено, что полисахариды корневищ аира болотного не увеличивают уровень цитогенетических нарушений в клетках костного мозга мышей и частоту появления мутантных пятен (маркеры mwr и flr) на крыле дрозофилы [1]. В настоящей работе продолжено изучение токсических свойств полисахаридов аира болотного: выполнена оценка возникновения мутантных щетинок (макрохеты на голове, тораксе и скутеллюме) у дрозофил фенотипа singed и появления пятен и щетинок на теле гетерозиготных самок первого поколения дрозофил фенотипа yellow, после выращивания их на среде с добавлением 4 и 6,25 % α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L. в тесте соматического мозаицизма.

Лопатина Ксения Александровна – канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории онкофармакологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга; тел.: +7 (3822) 41-77-47, e-mail: registryme@mail.ru

Материал и методы. Экспериментальная партия лекарственной формы α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана представлена Сибирским государственным медицинским университетом. Использовали 1 % стерильный изотонический раствор, полученный экстемпорально в лабораторных условиях из субстанции α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L. (серия № 100114) в Центре внедрения технологий Сибирского государственного медицинского университета. Стерилизацию проводили методом фильтрации через капсулу Sartobran P 0,45/0,2 μm (размер пор 0,2–0,45 мкм).

Мух *Drosophila melanogaster* содержали при температуре 24 °С в пробирках, куда добавляли по 5 мл питательной среды (4,5 г агара, 40 г сырых дрожжей, 13 г манной крупы, 13 г сахарозы). Корм готовили перед экспериментом, добавляя 2 мл пропионовой кислоты на 350 мл среды при температуре 60 °С. В эксперименте использовали тестерные линии дрозофил:

линия 1 – yellow – генотип y/y: y – рецессивный ген, обусловливающий развитие желтой окраски тела и щетинок;

линия 2 – w, sn^3 – генотип w sn^3/Y: w (white) белая окраска глаз, sn^3 ($singed^3$) – скрученная форма щетинок, оба гена рецессивные.

Девственных самок линии yellow в количестве пяти особей помещали вместе с двумя самцами линии w, sn^3 во флаконы, содержавшие питательную среду. Через 48–62 часа родителей пересаживали в пробирки со свежей питательной средой, а в прежние пробирки на поверхность среды капали анализируемое лекарственное средство в концентрации 4 и 6,25 %. В контроле на поверхность питательной среды капали физиологический раствор – 0,2 мл на 5 мл среды. Просмотр вылетевших особей начинали с 9–10-го дня. У гетерозиготных самок первого поколения регистрировали мутантные щетинки (макрохеты на голове, тораксе и скутеллюме) фенотипа singed и появление пятен и щетинок на теле фенотипа yellow. Подсчитывали общее количество просмотренных самок, число самок с одиночными и двойными пятнами.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением критерия χ^2 [3].

Результаты исследования. При анализе самок в опытной группе с концентрацией α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана 4 % обнаружено 2 одиночных пятна с фенотипом sn^3, одиночных (y) и двойных (y sn^3) пятен не отмечено. При концентрации 6,25 % наблюдалось три одиночных пятна с фенотипом sn^3 и одно одиночное пятно (y). Двойных пятен (y sn^3) также не зарегистрировано (табл.).

Обсуждение полученных данных. На основании результатов эксперимента при введении в питательную среду анализируемого лекарственного средства в концентрациях 4 и 6,25 % не отмечено достоверных отличий в появлении самок (3–4 самки). Таким образом, препарат на основе α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L. не проявляет мутагенных свойств.

Таблица

Учет соматической рекомбинации у Drosophila melanogaster при использовании маркеров yellow и singed

Показатель	Контроль	ЛС	
		4 %	6,25 %
Общее число самок	1001	1002	1002
Число мутантных пятен sn^3	2	2	3
Число мутантных пятен y	5	1	1
Число мутантных пятен y sn^3	0	0	0
Всего мутантных пятен	7	3	4
χ^2	–	1,6	0,9

Литература

1. Гурьев А.М., Белоусов М.В., Ахмеджанов Р.Р. [и др.] Исследование мутагенных свойств водорастворимых полисахаридов аира болотного // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2010. Т. 73, № 8. С. 43–45.
2. Зуева Е.П., Лопатина К.А., Разина Т.Г., Гурьев А.М. Полисахариды в онкологии. Томск: Печатная мануфактура, 2010. 108 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293 с.
4. Методические рекомендации по оценке мутагенных свойств лекарственных средств // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М., 2013. С. 94–114.
5. Методические рекомендации по применению соматического мутагенеза у D. melanogaster в качестве тест-системы для ускоренного определения канцерогенов. М.: МЗ СССР, 1982. 13 с.
6. Сафонова Е.А., Гурьев А.М., Разина Т.Г. [и др.] Повышение эффективности химиотерапии с помощью фармакологически активных фракций, выделенных из полисахаридного комплекса аира болотного (*Acorus calamus* L.) // Российский биотерапевтический журнал. 2012. Т. 11, № 4. С. 55–58.
7. Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Ветошкина Т.В. [и др.] Коррекция гепатотоксичности циклофосфана водорастворимыми полисахаридами мать-и-мачехи обыкновенной и аира болотного // Бюллетень сибирской медицины. 2011. № 1. С. 70–75.

Поступила в редакцию 18.12.2014.

Изучение мутагенных свойств α(1,2)-l-рамно-α(1,4)-d-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L.

О.В. Неупокоева[1], К.А. Лопатина[1, 2], О.Л. Воронова[1], Е.А. Сафонова[1], Е.П. Зуева[1, 2], А.А. Чурин[1]

1 Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (634028, г. Томск, пр-т Ленина, 3), 2 Национальный исследовательский Томский государственный университет (634050, г. Томск, пр-т Ленина, 36)

Резюме. Выполнен тест соматического мозаицизма на *Drosophila melanogaster*. Проводился подсчет мутантных щетинок у гетерозиготных самок первого поколения фенотипа singed и пятен и щетинок на теле фенотипа yellow после выращивания их на среде с добавлением α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L. в 4 и 6,25 % концентрациях. в опытных группах не было отмечено достоверных отличий в количестве самок с мутациями по сравнению с контролем.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster, соматический мозаицизм.*