

УДК 615.322:581.154:577.114:615.277.3

ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранона *Acorus calamus* L.

О.В. Неупокоева¹, К.А. Лопатина^{1,2}, О.Л. Воронова¹, Е.А. Сафонова¹, Е.П. Зуева^{1, 2}, А.А. Чурин¹

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 $\alpha(1,2)$ -L-ramno- $\alpha(1,4)$ -D-galactopiranoziluronan *Acorus calamus* L.

O.V. Neupokoeva¹, K.A. Lopatina^{1,2}, O.L. Voronova¹, E.A. Safonova¹, E.P. Zueva¹, A.A. Churin¹

¹Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg (3 Lenina Ave. Tomsk 634028 Russian Federation), ²National 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 $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранона 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. $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранон *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 $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранона 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 $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранона на

эпителий тонкой кишки в условиях терапии 5-фторурацилом проявлялось в повышении митотической активности в крипах 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 $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранон 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 гипополидемическое 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 *mwtg* 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 скутеллуме) 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% $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранона *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 $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана представлена Сибирским государственным медицинским университетом. Использовали 1% стерильный изотонический раствор, полученный экстенпорально в лабораторных условиях из субстанции $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана *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 °C 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 °C. В эксперименте использовали тестерные линии дрозофил:

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

линия 2 – w, sn^3 – генотип $w sn^3/Y$; w (white) белая окраска глаз, sn^3 (singe³) – 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 $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана 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

Таблица

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

Показатель	Конт-роль	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

отличий в появлении самок (3–4 самки). Таким образом, препарат на основе $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана *Acorus calamus* L. не проявляет мутагенных свойств.

References

- Gurev A.M., Belousov M.V., Akhmedzhanova R.R. [et al.] The study of mutagenic properties of water-soluble polysaccharides of Calamus // Experimental and Clinical Pharmacology. 2010. Vol. 73, No. 8. P. 43–45.
- Zueva E.P., Lopatina K.A., Razina T.G., Gurev A.M. Polysaccharides in oncology. Tomsk: Printing manufactory, 2010. 108 p.
- Lakin G.F. Biometry. M.: Higher School, 1980. 293 p.
- Guidelines on the assessment of mutagenic properties of drugs // Guidelines for conducting pre-clinical trials of medicinal products. Part I. M., 2013. P. 94–114.
- Guidelines on the use of somatic mutagenesis in *D. melanogaster* as a test system for rapid determination of carcinogens. M.: MOH USSR, 1982. 13 p.
- Safonova E.A., Gurev A.M., Razina T.G. [et al.] Increased effectiveness of chemotherapy using pharmacologically active fractions isolated from the complex polysaccharide of Calamus (*Acorus calamus* L.) // Russian Biotherapeutic Journal. 2012. Vol. 11, No. 4. P. 55–58.
- Safonova E.A., Lopatina K.A., Vetoshkina T.V. [et al.] Correction of hepatotoxicity of cyclophosphamide water-soluble polysaccharides of foalfoot and Calamus // Bulletin of Siberian Medicine. 2011. No. 1. P. 70–75.

Поступила в редакцию 18.12.2014.

Изучение мутагенных свойств $\alpha(1,2)$ -l-рамно- $\alpha(1,4)$ -d-галактопиранозилуранана *Acorus calamus* L.

О.В. Неупокоева¹, К.А. Лопатина^{1,2}, О.Л. Воронова¹, Е.А. Сафонова¹, Е.П. Зуева^{1,2}, А.А. Чуринов¹

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 $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана *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.