

© Карамова Н. С.,  
Фатыхова Д. Г.,  
Абдрахимова Й. Р.,  
Ильинская О. Н.

Казанский государственный  
университет, Казань

### ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГЕНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СОКОВ РАСТЕНИЙ *CHELIDONIUM MAJUS L.*, *PLANTAGO MAJOR L.* И *TUSSILAGO FARFARA L.*

✿ Антигенотоксические свойства соков трех лекарственных растений — чистотела большого (*Chelidonium majus L.*), подорожника большого (*Plantago major L.*) и мать-и-мачехи обыкновенной (*Tussilago farfara L.*) — были исследованы с использованием двух бактериальных тест-систем (SOS хромотест и Res тест). При совместном воздействии исследуемых соков растений и модельных генотоксикантов на клетки тестерных штаммов установлено, что сок растений чистотела большого проявляет десмутagenный эффект, снижая генотоксическое действие налидиксовой кислоты в SOS хромотесте и фурацилина в Res тесте. Соки растений чистотела большого и мать-и-мачехи (в разведениях 1:10 и 1:100) демонстрировали биоантимутагенный эффект в SOS хромотесте, так как преинкубация клеток тестерного штамма *E. coli* PQ37 с соками данных растений приводила к значительному уменьшению генотоксического эффекта налидиксовой кислоты. Сок растений подорожника не демонстрировал существенный статистически достоверный антигенотоксический эффект в обеих тест-системах. Обсуждаются возможные механизмы обнаруженных антигенотоксических свойств соков растений чистотела большого и мать-и-мачехи обыкновенной.

✿ **Ключевые слова:** соки растений *Chelidonium majus L.*, *Plantago major L.* и *Tussilago farfara L.*; антигенотоксический эффект; SOS хромотест; Res тест.

Поступила в редакцию 17.09.2009  
Принята к публикации 19.04.2010

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в биосфере идёт прогрессивное накопление химических соединений антропогенной природы, многие из которых обладают мутагенными свойствами (Бочков, Чеботарёв, 1989). Поэтому поиск антимутагенов — синтетических и природных соединений, защищающих генетический аппарат соматических и половых клеток человека от повреждений, является необходимым.

Антимутагены можно разделить на две основные группы: десмутagenны и биоантимутагены (Порошенко, Абилов, 1988). Десмутagenны препятствуют повреждению ДНК путем физического или химического взаимодействия с мутагеном до его проникновения в клетку. Биоантимутагены влияют на процессы, протекающие в организме: метаболическую активацию и детоксикацию мутагена, его транспорт и прохождение через клеточные мембраны, репарацию поврежденной ДНК.

В последние годы возрос интерес к исследованию антимутагенной активности растительных компонентов в свете возможности использования их для профилактики и лечения онкологических, а также ряда других заболеваний, сопровождающихся повышенной чувствительностью генома к повреждениям. Растения являются источниками разнообразных биоактивных соединений (витамины, полисахариды, гликопептиды, аминокислоты, сульфиды, сапонины, полифенолы, терпеноиды, изофлавоны, индолы и др.), обладающих антиоксидантными, антимутагенными, антиканцерогенными и иммуномодулирующими свойствами (Craig, 1999; Santos-Cervantes et al., 2007).

Перспективность использования растительных препаратов в медицине обусловлена также их меньшей токсичностью, что объясняется сходным химическим составом биологически активных веществ, а также определенным сродством метаболизма растительной и животной клетки (Коломиец, Ефимов, 2005).

Чистотел большой (*Chelidonium majus L.*) используется как в традиционной, так и альтернативной медицине, включая гомеопатию, для лечения кожных болезней, гипертонической болезни, стенокардии, заболеваний печени и желудка (Зузук и др., 2006; Tábořská et al., 1995; Kim et al., 1997). Рядом исследований установлено, что экстракт растений чистотела большого обладает противовоспалительным (Lenfeld et al., 1981), антивирусным (Kery et al., 1987),

антимикробным действием (Colombo, Bosisi, 1996) и замедляет рост злокачественных опухолей (Panzer et al., 2000; Biswas et al., 2008).

Подорожник большой (*Plantago major* L.) — одно из наиболее популярных и давно используемых лекарственных растений. Свежие листья и приготовленные из них сок, настой и экстракт обладают кровоостанавливающим, бактериостатическим, ранозаживляющим, отхаркивающим и гипотензивным действием. Кроме того, водные и спиртовые экстракты листьев являются эффективным средством при тяжелых формах язвенной болезни (Samuelsen, 2000; Оленников и др., 2007).

Мать-и-мачеха обыкновенная (*Tussilago farfara* L.) является старинным лекарственным средством против кашля, настой и отвар листьев оказывают отхаркивающее, смягчительное, противовоспалительное, антисептическое, дезинфицирующее и спазмолитическое действие. В народной медицине листья мать-и-мачехи часто применяют в виде отваров и настоев при остром и хроническом ларингите, бронхите, бронхиальной астме, бронхоэктатической болезни, воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта и мочевыводящих путей. Иногда сок из свежих листьев назначают при туберкулезе, затяжном рините (Кирпичников, 1981; Мать-и-мачеха обыкновенная — *Tussilago farfara* L., 2010).

Целью настоящей работы явилось исследование антигенотоксических свойств соков лекарственных растений чистотела большого (*Ch. majus* L.), подорожника большого (*P. major* L.) и мать-и-мачехи обыкновенной (*T. farfara* L.).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Растительный материал.** В работе использованы соки лекарственных растений чистотела большого (*Ch. majus* L.), подорожника большого (*P. major* L.) и мать-и-мачехи обыкновенной (*T. farfara* L.), любезно предоставленные доцентом кафедры физиологии и биотехнологии растений Казанского государственного университета Абдрахимовой Й. Р. Образцы растительных соков были получены следующим способом: свежие листья (5 г) промывали проточной водопроводной водой и измельчали. Полученную массу заворачивали в 4–6 слоев марли, отжимали между двумя стерильными металлическими пластинами, помещенными в тиски. Полученный сок центрифугировали 10 мин. при 4000 об/мин., далее супернатант пропускали через мембранный фильтр Synpro с диаметром пор 0,2 мкм. Стерильный растительный сок разливали в пробирки Эппендорф и хранили при температуре –20 °С. Перед исследованием соки растений разводили стерильной дистиллированной водой до концентрации 1:10 и 1:100.

**Химические агенты.** Ампициллин, фурацилин получены из ОАО «Синтез», г. Курган; 4-нитрофенилфосфат и 4-нитрофенил-β-D-галактопиранозид предоставлены Sigma — Aldrich Chemie GmbH, Германия; налидиксовая кислота — Chinoip, Венгрия.

**Штаммы микроорганизмов.** Штамм *Escherichia coli* PQ37 с генотипом *F<sup>-</sup> thr leu his-4 pyrD thi galE galK lacΔU169 srl300::Th10 rpoB rpsL uvrA rfa trp::Muc<sup>+</sup> sfi A::Mud (Ap, lac) cts*, получен из Института общей генетики, г. Москва. Для проведения Rec теста использовали штаммы *E. coli*, полученные из НИИ экологии микроорганизмов УНЦ РАН, г. Пермь:

WP2 *trpE65* — дикий тип;

*polA trpE65 sul malB polA* (отсутствует активность ДНК-полимеразы I)

*uvrA trpE65 sul, uvrA155* (нарушена эксцизионная репарация)

*recA trpE65 recA* (нарушена пострепликативная репарация, общая рекомбинация, SOS ответ клетки) (Ильинская, 2005).

Антигенотоксические свойства образцов растительных соков оценивали в SOS хромотесте и Rec тесте.

**SOS хромотест** проводили согласно методу, описанному Келардые и Хофнунг (Quillardet, Hofnung, 1985). Благодаря наличию «сшивки» *sfi A::lac Z*, экспрессия гена β-галактозидазы *lacZ* в штамме PQ 37 находится под контролем промотора гена *sfiA*, одного из компонентов SOS-регулона *E. coli*. Показателем SOS индуцирующей активности исследуемых агентов в SOS хромотесте является активность β-галактозидазы, которую оценивают относительно активности конститутивного фермента — щелочной фосфатазы (Quillardet, Hofnung, 1985). SOS хромотест находит широкое применение для исследования генотоксических и антигенотоксических свойств различных агентов, в том числе и экстрактов растений (Bouhlej et al., 2007).

В данной работе тестирование проводили следующим образом: 18-часовую культуру тестерного штамма разводили свежей питательной средой LB (Миллер, 1976) с добавлением ампициллина (20 мкг/мл) в отношении 1:3 и подращивали при температуре 37 °С с аэрацией до достижения экспоненциальной фазы роста. Затем бактериальную суспензию разводили питательной средой LB в отношении 1:10 и разливали по пробиркам. В качестве негативного контроля использовали стерильную дистиллированную воду, в позитивном контроле — известный индуктор SOS ответа клетки — налидиксовую кислоту (60 мкг/мл). При исследовании десмутативного эффекта растительные соки и налидиксовая кислота были одновременно добавлены в пробирки с культурой клеток *E. coli* PQ37. При исследовании биоантимутагенного эффекта растительных соков налидиксовую кислоту добавляли после предварительной (в течение 18 часов) обработки клеток *E. coli* PQ37 растительными соками (100 мкл на пробу). Далее исследуемые смеси инкубиро-

вали 2 ч. при температуре 37°C. Для каждого разведения растительных соков, негативного и положительного контролей измерения проводили в трех повторностях.

Активность β-галактозидазы определяли по методу, описанному Миллером (Миллер, 1976). Активность щелочной фосфатазы определяли согласно методу, описанному Келардье и Хофнунг (Quillardet, Hofnung, 1985). Для количественной оценки SOS ответа использовали показатель IF (фактор индукции SOS ответа клетки), который определяли по формуле (Quillardet, Hofnung, 1985):

$$IF = \frac{R(O)}{R(C)}, \text{ где}$$

$$R(O) = \frac{\text{Активность } \beta\text{-галактозидазы в опыте}}{\text{Активность щелочной фосфатазы в опыте}}$$

$$R(C) = \frac{\text{Активность } \beta\text{-галактозидазы в контроле}}{\text{Активность щелочной фосфатазы в контроле}}$$

Фактор индукции SOS ответа клетки  $IF > 2$  свидетельствует о том, что исследуемое соединение обладает генотоксическим эффектом (Mersch-Sundermann et al., 1991; Bouhleh et al., 2007). Фактор индукции SOS ответа клетки для модельного генотоксического агента — налидиксовой кислоты в наших экспериментах соответствовал данному критерию, т. е.  $IF > 2$ .

Антигенотоксический эффект растительных соков в SOS хромостесте оценивали согласно формуле (Bouhleh et al., 2007):

$$AЭ (\%) = 100 - \frac{IF_1}{IF_2} \times 100, \text{ где}$$

$IF_1$  — фактор индукции SOS ответа в присутствии мутагена и исследуемого экстракта,  $IF_2$  — фактор индукции SOS ответа при действии мутагена.

**Рес тест позволяет** оценивать ДНК-повреждающий эффект исследуемого соединения по сравнительному анализу выживаемости тестерных бактерий с нормальной и дефектной системой репарации ДНК (Slater et al., 1971; Leifer et al., 1981).

Культуру тестерных штаммов с косяка пересевали в 5 мл питательной среды LB и инкубировали при температуре 37°C в течение 18 часов. Чашки Петри с полноценной агаризованной средой засеивали газоном культуры тестерных бактерий. Чашки оставляли на 60–90 минут при комнатной температуре. Затем в середину чашки на поверхность газона помещали стерильный бумажный диск ( $d=2$  см). Для оценки десмутагенного действия растительных соков на диски одновременно наносили 50 мкл раствора фурацилина и 50 мкл растительных соков в различных разведениях.

В качестве негативного контроля использовали дистиллированную воду, для позитивного контроля — фурацилин (500 мкг/мл). Чашки Петри инкубировали 24 часа при температуре 37°C, далее измеряли зону

ингибирования роста тестерных бактерий вокруг диска, т.е. расстояние от края бумажного диска до края зоны подавления роста тестерных бактерий. Растительные соки в каждом из трех разведений, негативный и положительный контроли тестировали в трех повторностях.

Антигенотоксический эффект растительных соков в Res тесте определяли по формуле:

$$AЭ (\%) = 100 - \frac{Xa - Xb}{Ya - Yb} \times 100, \text{ где}$$

$Xa$  и  $Xb$  — размеры зон ингибирования роста вокруг диска у штамма с дефектом репарации ( $Xa$ ) и штамма дикого типа ( $Xb$ ) при совместном действии фурацилина и сока растений, мм;  $Ya$  и  $Yb$  — размеры зон ингибирования роста вокруг диска у штамма с дефектом репарации ( $Ya$ ) и штамма дикого типа ( $Yb$ ) при действии только фурацилина, мм.

**Статистический анализ данных** проводили, используя t-критерий Стьюдента (Лакин, 1994). Приведенные в работе данные представляют собой среднее значение трех независимых экспериментов  $\pm \sigma$  (среднеквадратичное отклонение). Различия между группами данных считали достоверными при  $P \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Десмутагенный эффект исследуемых растительных соков

Десмутагенные свойства соков лекарственных растений чистотела большого, подорожника большого и мать-и-мачехи обыкновенной были исследованы в SOS хромостесте и Res тесте при совместной обработке тестерных бактерий соками растений с классическим индуктором SOS ответа налидиксовой кислотой и с индуктором повреждений ДНК фурацилином.

Как видно из результатов, представленных на рисунке 1а, сок растений чистотела большого обладает выраженным десмутагенным эффектом, существенно снижая генотоксичность налидиксовой кислоты при совместном воздействии на клетки *E. coli* PQ37. Эффективность антигенотоксического действия сока чистотела и его разведений 1:10 и 1:100 в SOS хромостесте составляет 79 %, 76 % и 79 % соответственно (рис. 1а).

В отличие от чистотела большого, сок растений подорожника большого не вызывал заметного снижения генотоксического эффекта налидиксовой кислоты, при этом наивысший десмутагенный эффект (32 %), выявленный при разведении сока подорожника 1:100, оказался статистически недостоверным (рис. 2а).

Сок растений мать-и-мачехи обыкновенной проявил десмутагенный эффект, что выразилось в снижении фактора индукции SOS ответа клеток *E. coli* PQ37 в 2 раза (рис. 3а). При последующем разведении сока мы не обнаружили выраженного десмутагенного эффекта — 16 % и 13 % для разведений сока 1:10 и 1:100, соответственно (рис. 3а).

Из результатов, представленных в таблице 1 видно, что сок чистотела большого проявляет десмутагенное действие в Res тесте. Наивысший эффект наблюдался при совместном действии фурацилина и сока чистотела на штамм *polA*, дефектный по ДНК-полимеразе I, что выражалось в существенном снижении генотоксического действия фурацилина (90 %). В то же время, нам не удалось обнаружить выраженного десмутагенного эффекта сока чистотела большого при тестировании на штаммах *uvrA* и *гесА* (таблица 1).

Результаты оценки десмутагенного эффекта сока подорожника большого в Res тесте, представленные в таблице 2, показывают, что сок данного растения оказывает более слабое по сравнению с соком растений чистотела большого десмутагенное действие на тестерные штаммы *E. coli*. Наиболее заметный эффект сок подорожника большого также оказывал на штамм *polA* (до 36 % в разведении 1:100).

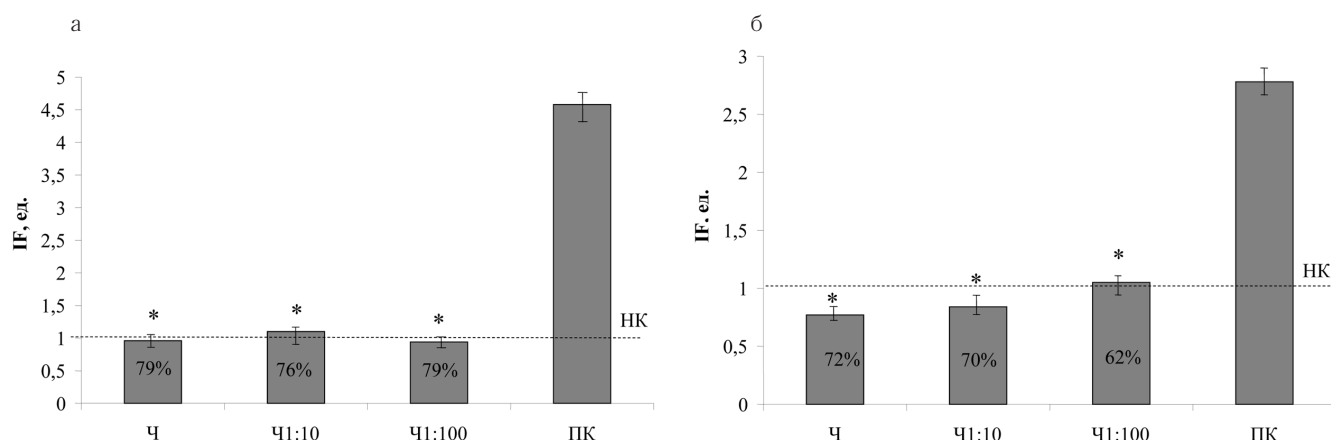
При одновременном действии растительного сока мать-и-мачехи обыкновенной и фурацилина на тестерные штаммы *E. coli* различия между размерами зон ин-

гибирования на чашках с нормальными и дефектными по репарации бактериями были незначительными. Значение десмутагенного эффекта в этом случае не превышало 17 % (табл. 3).

### Биоантимутагенный эффект исследуемых растительных соков

Предварительная обработка клеток тестерного штамма *E. coli* PQ37 соком чистотела большого в течение 18 ч. приводила к практически полному исчезновению генотоксического действия налидиксовой кислоты. При добавлении налидиксовой кислоты после предварительной инкубации клеток тестерных бактерий с соком данного растения в исследуемом спектре разведений фактор индукции SOS ответа IF составлял 0,77–1,05 ед., в то время как IF в позитивном контроле достигал 2,8 ед., что свидетельствует о наличии биоантимутагенных свойств у сока растений *Ch. majus* L. (рис. 1б).

Из результатов, представленных на рис. 2б, видно, что предварительная инкубация клеток тестерных бак-



**Рис. 1.** Результаты исследования антигенотоксического действия сока растений чистотела большого *Ch. majus* L. в SOS хромотесте. а — Десмутагенный эффект сока растений чистотела большого. б — Биоантимутагенный эффект сока растений чистотела большого. Ч — сок чистотела большого и налидиксовая кислота, Ч1:10 — сок чистотела большого в разведении 1:10 и налидиксовая кислота, Ч1:100 — сок чистотела большого в разведении 1:100 и налидиксовая кислота. НК (пунктирная линия) — негативный контроль. ПК — позитивный контроль (налидиксовая кислота). % — Показатель эффективности антигенотоксического действия. \* — Достоверно отличается от ПК,  $P \leq 0,05$ .

Таблица 1

### Результаты оценки антигенотоксического эффекта сока чистотела большого в Res тесте

Исследуемые соединения	Зона ингибирования роста штаммов, мм			
	WP2	гесА	polA	uvrA
Фурацилин	1,5 ± 0,10	6,5 ± 0,52	5,5 ± 0,35	6,0 ± 0,54
Сок чистотела и фурацилин	1,0 ± 0,08	5,5 ± 0,45 (10%)	1,5 ± 0,12 (88%)*	4,5 ± 0,38 (23%)
Сок чистотела 1:10 и фурацилин	1,3 ± 0,12	5,0 ± 0,37 (26%)	1,7 ± 0,09 (90%)*	3,2 ± 0,30 (58%)*
Сок чистотела 1:100 и фурацилин	0,5 ± 0,03	3,7 ± 0,21 (36%)*	1,3 ± 0,11 (80%)*	3,0 ± 0,22 (45%)*

\* — Статистически достоверно отличается от позитивного контроля,  $P \leq 0,05$ . В скобках приведены показатели эффективности антигенотоксического действия, %.

терий с соком растений подорожника большого снижала фактор индукции SOS ответа в 1,6–2 раза, хотя IF SOS ответа, индуцированного налидиксовой кислотой после предварительной инкубации с соком растений подорожника большого, только в одном случае статистически достоверно отличался от IF для позитивного контроля. Антигенотоксический эффект сока данного растения, как неразбавленного, так и в разведениях 1:10 и 1:100 составил 55 %, 36 % и 39 %, соответственно.

При исследовании сока растений мать-и-мачехи установлено, что разведение сока приводит к повышению его биоантимутагенной активности. Сок растения в разведениях 1:10 и 1:100 снижал IF SOS ответа, индуцированного налидиксовой кислотой в клетках *E. coli* PQ37, в 7,2 и 6,8 раза, эффективность антигенотоксического действия достигала 86 % (рис. 3б).

Итак, из исследованных нами соков трех лекарственных растений только сок растений чистотела большого (*Ch. majus* L.) демонстрировал значительный десмутагенный эффект в обоих тестах и биоантимутагенный эффект в SOS хромотесте. Преинкубация клеток тестерно-

го штамма *E. coli* PQ37 с соком мать-и-мачехи в низких дозах приводила к снижению уровня индуцированного SOS ответа. Сок подорожника большого оказался неэффективным как десмутаген, наименее эффективным как биантимутаген в SOS хромотесте и слабым десмутагеном в Rec тесте.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Имеется ряд исследований, свидетельствующих об антиканцергенном действии экстрактов растений чистотела большого. Ким и Ли (Kim, Lee, 1997) показали, что экстракт растений чистотела оказывает ингибирующее действие на развитие опухоли желудка. Даже очень низкие дозы гомеопатического препарата *Chelidonium* 30 и *Chelidonium* 200 оказывали терапевтический эффект при индуцированном гепатоканцерогенезе у мышей (Biswas, Khuda-Bukhsh, 2002). Установлено, что экстракт из *Ch. majus* L. обладает сильным антиоксидантным действием и ингибирует пролиферацию опухолевых клеток (Nadova, 2008). Бисвас с соавт. (Biswas

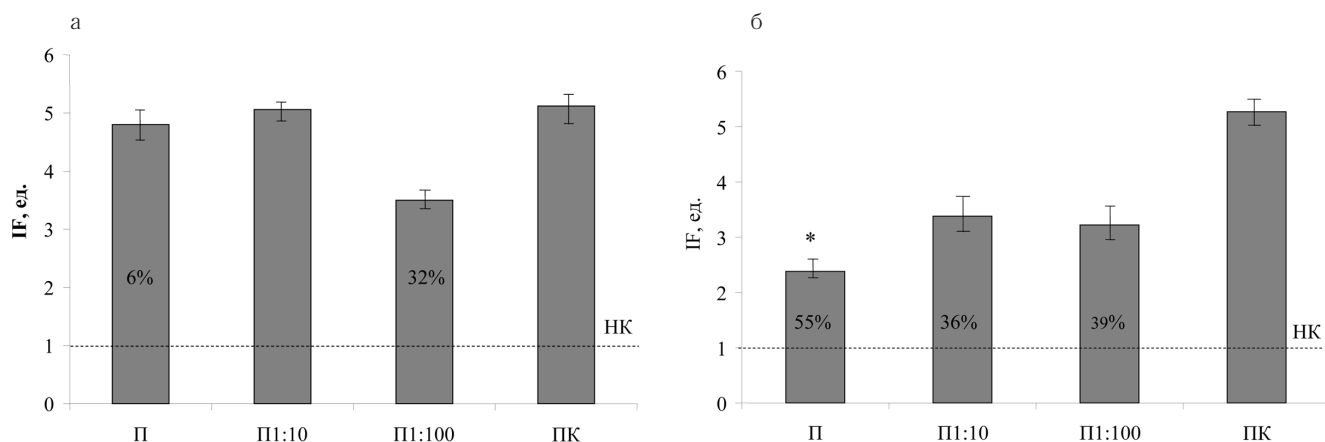


Рис. 2. Результаты исследования антигенотоксического действия сока растений подорожника большого *P. major* L. в SOS хромотесте. а — Десмутагенный эффект сока растений подорожника большого. б — Биоантимутагенный эффект сока растений подорожника большого. П — Сок подорожника большого и налидиксовая кислота, П1:10 — сок подорожника большого в разведении 1:10 и налидиксовая кислота, П1:100 — сок подорожника большого в разведении 1:100 и налидиксовая кислота. НК (пунктирная линия) — негативный контроль. ПК — позитивный контроль (налидиксовая кислота). % — Показатель эффективности антигенотоксического действия. \* — Достоверно отличается от ПК,  $P \leq 0,05$ .

Таблица 2

## Результаты оценки антигенотоксического эффекта сока подорожника большого в Rec тесте

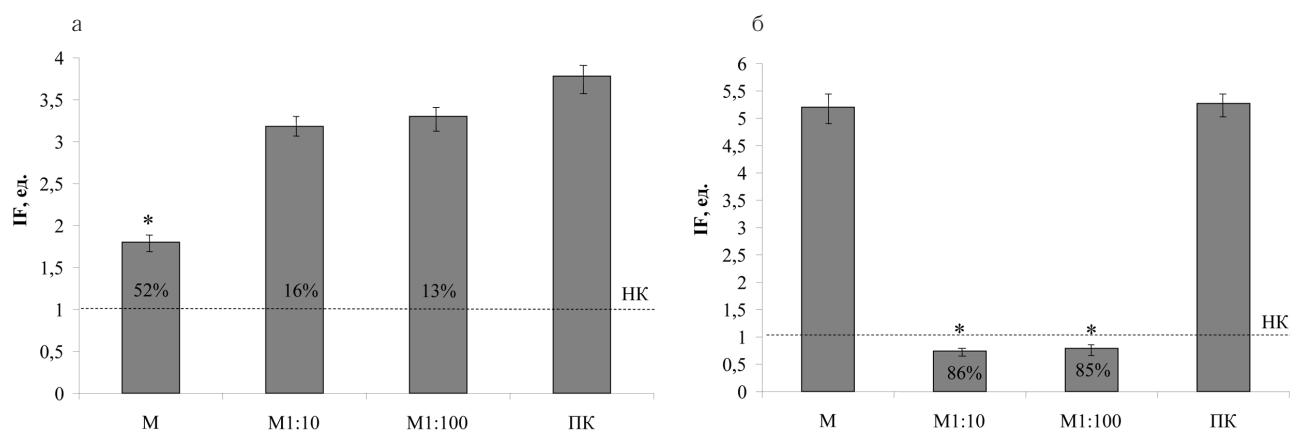
Исследуемые соединения	Зона ингибирования роста штаммов, мм			
	WP2	recA	poA	uvrA
Фурацилин	1,7 ± 0,14	5,5 ± 0,48	5,5 ± 0,50	6,5 ± 0,52
Сок подорожника	1,5 ± 0,12	5,0 ± 0,37 (8%)	4,2 ± 0,28 (29%)	5,8 ± 0,49 (11%)
Сок подорожника 1:10 и фурацилин	1,5 ± 0,09	5,2 ± 0,50 (4%)	4,5 ± 0,34 (22%)	6,0 ± 0,48 (7%)
Сок подорожника 1:100 и фурацилин	1,6 ± 0,15	5,0 ± 0,25 (11%)	4,0 ± 0,30 (36%)*	5,5 ± 0,37 (19%)

\* — Статистически достоверно отличается от позитивного контроля,  $P \leq 0,05$ . В скобках приведены показатели эффективности антигенотоксического действия, %.

et al., 2008) показали, что экстракт чистотела большого обладает антикластогенным эффектом, снижая частоту хромосомных aberrаций и микроядер в клетках костного мозга мышей. Известно, что чистотел большой содержит значительное количество биологически активных веществ: дубильные вещества, флавоноиды, сапонины, витамины А и С, органические кислоты (1,4–4,32 %), представленные хелидоновой, лимонной, яблочной, аскорбиновой и янтарной. Данное растение характеризуется наличием алкалоидов (около 27 видов), оказывающих селективное цитостатическое действие на опухолевые клетки человека в условиях *in vitro*. Экстракт корней, листьев растения содержит бензофенантридиновые алкалоиды, такие как хелидонин, хелеритрин, берберин и др., с которыми связывают антиканцерогенные эффекты экстрактов данного растения (Barreto et al., 2003; Wolff, Knipling, 1993; Biswas et al., 2008).

Результаты, полученные нами при исследовании сока растений чистотела большого в SOS хромотесте и Rec тесте, свидетельствуют о том, что антиканцерогенные, антикластогенные и антимуагенные эффекты сока

данного растения могут быть обусловлены десмуагенным действием его биоактивных компонентов. Вместе с тем, на основании данных о биоантимутагенном эффекте сока чистотела большого в SOS хромотесте с преинкубацией мы можем предположить, что протекторное действие биологически активных веществ растения связано также с влиянием на процессы репарации ДНК. Следует также отметить, что эффективность антигенотоксического действия сока чистотела большого в SOS хромотесте без преинкубации не зависела от дозы — при разведении сока в 10 и 100 раз эффект практически не изменялся. Эффективность антигенотоксического действия сока определяется комплексом веществ, среди которых могут быть антиоксиданты, токсичные и генотоксичные соединения. Возможно, что разный дозо-зависимый эффект компонентов приводит к нивелированию значения антигенотоксического эффекта сока при его разведении. С другой стороны, вероятным является определенное ограничение проникновения компонентов сока с антигенотоксическим действием в бактериальную клетку, в связи с чем мы не наблюда-



**Рис. 3.** Результаты исследования антигенотоксического действия сока растений мать-и-мачехи обыкновенной *T. farfara* L. в SOS хромотесте. а — Десмуагенный эффект сока растений мать-и-мачехи обыкновенной. б — Биоантимутагенный эффект сока растений мать-и-мачехи обыкновенной. М — Сок мать-и-мачехи обыкновенной и налидиксовая кислота, М1:10 — сок мать-и-мачехи обыкновенной в разведении 1:10 и налидиксовая кислота, М1:100 — сок мать-и-мачехи обыкновенной в разведении 1:100 и налидиксовая кислота. НК (пунктирная линия) — негативный контроль. ПК — позитивный контроль (налидиксовая кислота). % — Показатель эффективности антигенотоксического действия. \* — Достоверно отличается от ПК,  $P \leq 0,05$ .

Таблица 3

**Результаты оценки антигенотоксического эффекта сока растений мать-и-мачехи в Rec тесте**

Исследуемые соединения	Зона ингибирования роста штаммов, мм			
	WP2	recA	polA	uvrA
Фурацилин	2,0 ± 0,16	5,0 ± 0,37	4,8 ± 0,22	5,0 ± 0,44
Сок мать-и-мачехи и фурацилин	1,8 ± 0,09	4,5 ± 0,32 (10%)	4,3 ± 0,24 (11%)	4,5 ± 0,35 (10%)
Сок мать-и-мачехи 1:10 и фурацилин	2,0 ± 0,18	4,5 ± 0,28 (17%)	4,5 ± 0,20 (11%)	4,5 ± 0,29 (17%)
Сок мать-и-мачехи 1:100 и фурацилин	1,8 ± 0,11	4,3 ± 0,30 (17%)	4,2 ± 0,33 (15%)	4,3 ± 0,21 (17%)

В скобках приведены показатели эффективности антигенотоксического действия, %.

ли изменения значения антигенотоксического действия сока в зависимости от дозы.

Нам не удалось обнаружить значительный десмутагенный эффект для сока растений подорожника большого как в SOS хромотесте, так и Rec тесте. В литературе имеются данные о том, что экстракты данного растения могут оказывать генотоксическое действие. В работе Басаран с соавт. (Basaran et al., 1996) установлено, что экстракты *P. major* L. вызывают повреждение в лимфоцитах человека (метод ДНК-комет), хотя и не обладают мутагенной активностью в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100. Водный экстракт листьев данного растения индуцирует высокую частоту рекомбинации в соматических клетках *Drosophila melanogaster* (Pimenta, Nepomuceno, 2005). Возможно, что генотоксические эффекты обусловлены входящими в состав растения токсичными соединениями, такими как нитраты, щавелевая и эруковая кислоты (Guil et al., 1997). При изучении состава биологически активных веществ установлено наличие в растениях подорожника следующих основных соединений: белки, гемицеллюлозы, фотосинтетические пигменты, алкалоиды, дубильные вещества, фенольные кислоты, флавоноиды, производные кофейной кислоты (Оленников и др., 2007). Одним из важнейших компонентов растений семейства *Plantago* являются флавоноиды и, в частности, лютеолин-7- $\beta$ -D-глюкозид, присутствием которых объясняют антиканцерогенный эффект большинства видов *Plantago* (Kawashty et al., 1994; Galvez et al., 2003; Richardson, 2001; Samuelsson, 2004).

Установлено, что водные экстракты листьев растений *Plantago lanceolata* L. снижают митотический индекс и частоту хромосомных aberrаций, индуцированных  $H_2O_2$  в клетках корневой меристемы *Allium cepa* (Çelik, Aslantürk, 2006). При исследовании антимуутагенной активности 41 лекарственного растения Сибирского региона с использованием микроядерного теста Ефимов с соавт. показали, что подорожник большой относится к растениям, проявляющим среднюю антикластогенную активность (Ефимов и др., 2004). Экстракт растения снижал количество микроядер, индуцированных рентгеновским облучением в эритроцитах периферической крови мышей, с 4,8% до 2,95%. Данные о незначительном антигенотоксическом действии сока растений подорожника большого в бактериальных тест-системах позволяют нам предположить, что биологическая активность антимуутагенных компонентов растений *Plantago* (в отличие от генотоксичных веществ) возможно, связана с регуляторными эффектами на процессы метаболизма мутагенов в организме.

При исследовании, биоантимутагенных свойств сока растений мать-и-мачехи нами установлен значительный ингибирующий эффект сока этого растения на развитие SOS ответа, индуцируемого налидиксовой кислотой в клетках *E. coli* PQ37. Интересно отметить, что биоан-

тимутагенное действие сока проявляется при его разведении. Увеличение эффективности биопротекторного действия с уменьшением дозы показано при изучении некоторых биологически активных веществ, в частности, антиоксидантов (Савина и др., 2009).

Известно, что листья мать-и-мачехи содержат горькие гликозиды, сапонины, каротиноиды, галловую, яблочную и винную кислоты, ситостерин, аскорбиновую кислоту, слизи, дубильные вещества, следы эфирного масла, минеральные соли, полисахариды инулин и декстрины (Кирпичников, 1981; Мать-и-мачеха обыкновенная — *Tussilago farfara* L., 2010). Известно, что инулин — углевод, содержащий неперевариваемые фруктоолигосахариды, — оказывает благоприятное действие на развитие некоторых бактерий кишечной микрофлоры и считается бифидогенным фактором (Mitsuoka et al., 1987). Более того, в ряде исследований показано, что бутират, образующийся при бактериальной ферментации инулина, обладает противоопухолевым действием (Reddy et al., 1997; Валышев, 2000). Возможно, что при разведении сока растений мать-и-мачехи полученная доза биологически активных веществ была оптимальной для реализации антигенотоксического потенциала.

Таким образом, исследование антигенотоксических свойств соков растений чистотела большого (*Ch. majus* L.), подорожника большого (*P. major* L.) и мать-и-мачехи обыкновенной (*T. farfara* L.) в бактериальных тест-системах позволило выявить значительный десмутагенный эффект сока чистотела большого в SOS хромотесте и Rec тесте и его биоантимутагенный эффект в SOS хромотесте, а также биоантимутагенный эффект сока мать-и-мачехи обыкновенной в SOS хромотесте. В литературе имеется ряд сообщений об антигенотоксическом действии различных растительных экстрактов и их отдельных компонентов в SOS хромотесте. Так, в работе Боухлел с соавт. (Bouhleh et al., 2007) показано, что экстракты листьев растений *Acacia salicina* L. существенно снижали генотоксичность нифуроксазида и промутагена бенз[а]пирена. Способность к уменьшению генотоксического эффекта нифуроксазида также показана для эфирных масел, выделенных из растений *Pituranthos chloranthus*. Более того, исследованные образцы эфирных масел демонстрировали значительный антигенотоксический эффект в отношении перекиси водорода на штаммах *E. coli* PQ37 и PQ35 в SOS хромотесте (Neffati et al., 2009). Экстракты фруктов баиля *Aegle marmelos* L. снижали IF SOS ответа, индуцированного в клетках тестерных бактерий перекисью водорода, а также афлатоксином В1 (Kaur et al., 2009). При исследовании влияния экстрактов растений филлантуса округлого *Phyllanthus orbicularis* L., лимонной травы *Cymbopogon citrates* L., сосны карибской *Pinus caribaea* L. на генотоксический эффект  $\gamma$ -лучей в SOS хромотесте Фуентес с соавт. (Fuentes et al., 2006) обнаружили радиопротек-

торное действие экстрактов данных растений. Большинство исследователей связывают антигенотоксический эффект экстрактов различных растений с антиоксидантным действием компонентов растительных экстрактов.

Способность соков растений чистотела большого и мать-и-мачехи снижать генотоксичность модельных мутагенов может быть обусловлена биологически активными веществами, содержащимися в растениях: фенольными соединениями, хлорофиллом, витаминами и другими вторичными метаболитами (алкалоидами, сапонинами) (Ефимов и др., 2004; Craig, 1999; Martinez et al., 2003; Moura et al., 2007; Santos-Cervantes et al., 2007). На основании данных, полученных при изучении биоантимутагенной активности растительных соков мы можем предположить, что исследованные соки чистотела большого и мать-и-мачехи обыкновенной либо способствуют блокированию процесса индукции SOS сигнала, либо активируют иные системы репарации способствующие безошибочному исправлению повреждений ДНК.

Дальнейшие исследования, направленные на выяснение конкретных компонентов и механизмов, обуславливающих антимутагенные эффекты данных растений, помогут разработать стратегию их рационального использования для создания антимутагенных препаратов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа была поддержана аналитической федеральной программой «Развитие научного потенциала высшей школы» (2.1.1/920) и государственным контрактом №02.740.11.0391.

## Литература

1. Бочков Н. П., Чеботарёв А. И., 1989. Наследственность человека и мутагены внешней среды. М.: Медицина. АМН СССР. С. 9–12.
2. Вальшев А. В., Кириллов В. А., Кириллов Д. А., Бухарин О. В., 2000. Влияние инулина на биологические свойства энтеробактерий // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. № 1. С. 79–80.
3. Ефимов С. Н., Дмитрук С. И., Ильинских Н. Н., 2004. Антимутагенная активность лекарственных растений Сибирского региона // Бюллетень сибирской медицины. № 3. С. 17–27.
4. Зузук Б. М., Куцук Р. В., Федяк И. О., 2006. Чистотел большой *Chelidonium majus* L. Аналитический обзор // Провизор. 2006. №10. URL: [http://www.provisor.com.ua/archive/2006/N6/art\\_24.htm?part\\_code=68&art\\_code=5197](http://www.provisor.com.ua/archive/2006/N6/art_24.htm?part_code=68&art_code=5197) (дата обращения: 07.05.09).
5. Ильинская О. Н., Маргулис А. Б., 2005. Краткосрочные тест-системы для определения генотоксичности. Методическое руководство. Казань: КГУ, 31 с.
6. Кирпичников М. Э., 1981. Семейство сложноцветные или астровые (*Asteraceae* или *Compositae*) // Жизнь растений. Т. 5. Ч. 2. Цветковые растения / под ред. А. А. Тахтаджяна. М.: Просвещение. С. 462–476.
7. Коломиец Н. Э., Ефимов С. Н., 2005. Антимутагенные свойства растений рода хвощ // Фармация. № 5. С. 31–32.
8. Лакин Г. Ф., 1990. Биометрия. М.: Высшая школа, 352 с.
9. Мать-и-мачеха обыкновенная — *Tussilago farfara* L., 2010 // Справочник по дикорастущим травам. URL: <http://www.wildherbs.ru/content/view/175/122> (дата обращения 12.01.10).
10. Миллер Дж., 1976. Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир. 438 с.
11. Оленников Д. Н., Samuelsen A. B., Танхаева Л. М., 2007. Подорожник большой (*Plantago major* L.). Химический состав и применение // Химия растительного сырья. №2. С. 37–50.
12. Порошенко Г. Г., Абилов С. К., 1988. Антропогенные мутагены и природные антимутагены // Итоги науки и техники ВИНТИ. Общая генетика. Т. 12. С. 134–152.
13. Савина Н. В., Никитченко Н. В., Даливеля О. В. и др., 2009. Дилудин и церебрократ как биопротекторы в модельных тест-системах *in vivo* // Экологическая генетика. Т. VII. Вып. 3. С. 30–43.
14. Barreto M. C., Pinto R. E., Arrabaça J. D., Pavão M. L., 2003. Inhibition of mouse liver respiration by *Chelidonium majus* isoquinoline alkaloids // Toxicology Letters. Vol. 146 P. 37–47.
15. Basaran A. A., Yu T. W., Plewa M. J., Anderson D., 1996. An investigation of some Turkish herbal medicines in *Salmonella typhimurium* and in the Comet assay in human lymphocytes // Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis. Vol.16. P. 125–138.
16. Biswas S. J., Khuda-Bukhsh A. R., 2002. Effect of homeopathic drug, *Chelidonium*, in amelioration of p-DAB induced hepatocarcinogenesis in mice // BMC Complementary and Alternative Medicine. Vol. 2. P. 4–12.
17. Biswas S. J., Bhattacharjee N., Khuda-Bakhsh A. R., 2008. Efficacy of plant extract (*Chelidonium majus* L.) in combating induced hepatocarcinogenesis in mice // Food and Chemical Toxicology. Vol. 46. P. 1474–1487.
18. Bouhrel I., Mansour H. B., Limem I. et al., 2007. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in different extracts from the leaves of *Acacia salicina* from the center of Tunisia // Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 23. P. 56–63.
19. Çelik T. A., Aslantürk Ö. S., 2006. Anti-mitotic and anti-genotoxic effects of *Plantago lanceolata* aqueous extract on *Allium cepa* root tip meristem cells // Biolo-



- gia, Bratislava, Section Cellular and Molecular Biology. Vol. 61/6. P. 693–697.
20. Colombo M. L., Bosisio E., 1996. Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. // Pharmacology Research. Vol. 33. P. 127–134.
  21. Craig W. J., 1999. Health promoting properties of common herbs // The American Journal of Clinical Nutrition. Vol. 70. P. 491S — 499S.
  22. Fuentes J. L., Alonso A., Cuetara E., et al., 2006. Usefulness of the SOS chromotest in the study of medicinal plants as radioprotectors // International journal of radiation biology. Vol. 82. P. 323–329.
  23. Galvez M., Cordero M. C., Lopez-Lazaro M. et al., 2003. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines // Journal of Ethnopharmacology. Vol. 88. P. 125–130.
  24. Guil J. L., Rodriguez-Garcira L., Torija E., 1997. Nutritional and toxic factors in selected wild edible plants // Plant Foods for Human Nutrition. Vol. 51. P. 99–107.
  25. Kaur P., Amandeep Walia A., Subodh Kumar S., Satwinderjeet Kaur S., 2009. Antigenotoxic activity of polyphenolic rich extracts from *Aegle marmelos* (L.) Correa in human blood lymphocytes and *E. coli* PQ 37 // Rec. Nat. Prod. Vol. 3. P. 68–75.
  26. Kawashty S. A., Gamal E. D., Abdala M. F., Saleh N. A. M., 1994. Flavonoids in *Plantago* species in Egypt // Biochemical Systematics and Ecology. Vol. 22. P. 729–733.
  27. Kery R. Y., Horvath J., Nasz I. et al., 1987. Antiviral alkaloid in *Chelidonium majus* L. // Acta Pharmaceutica Hungarica. Vol. 57. P. 19–25.
  28. Kim D. J., Ahn B., Han B. S., Tsuda H., 1997. Potential preventive effects of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae) herb extract on glandular stomach tumor development in rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) and hypertonic sodium chloride // Cancer Letters. Vol. 112. P. 203–208.
  29. Kim D. J., Lee I. S., 1997. Chemopreventive effects of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae) herb extract on rat gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) and hypertonic sodium chloride // Journal of Food Science and Nutrition. Vol. 2, N 1. P. 49–54.
  30. Leifer Z., Kada T., Mandel M. et al., 1981. An evaluation of tests using DANN repair-deficient bacteria for predicting genotoxicity and carcinogenicity. A report of the U.S. EPA's Gene-TOX Program // Mutat. Research. Vol. 87. P. 211–297.
  31. Lenfeld J., Kroutil M., Marsalek E. et al., 1981. Anti-inflammatory activity of quaternary benzophenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus* // Planta Medica. Vol. 43. P. 161–165.
  32. Martinez C. J., Loarca-Pia G., Ortiz G. D., 2003. Antimutagenic activity of phenolic compounds, oligosaccharides and quinolizidinic alkaloids from *Lupinus campestris* seeds // Food Additives & Contaminants: Part A. Vol. 20. P. 940–948.
  33. Mersch-Sundermann V., Kern S., Wintermann F., 1991. Genotoxicity of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons and related structures on *Escherichia coli* PQ 37 (SOS-chromotest) // Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol. 18. P. 41–50.
  34. Mitsuoka T., Hidaka H., Eida T., 1987. Effect of fructooligosaccharides on intestinal microflora // Nahrung. Vol. 31. P. 427–436.
  35. Moura D. J., Richter M. F., Boeira J. M. et al., 2007. Antioxidant properties of  $\beta$ -carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities // Mutagenesis. Vol. 22(4) P. 293–302.
  36. Nadova S., 2008. Potential antioxidant activity, cytotoxic and apoptosis-inducing effects of *Chelidonium majus* L. extract on leukemia cells // Neuro Endocrinology Letters. Vol. 29. P. 53–56.
  37. Neffati A., Bouhlea I., Ben Sghaier M. K. et al., 2009. Antigenotoxic and antioxidant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils // Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 27. P. 187–194.
  38. Panzer A., Joubert A. M., Bianchi P. C., Seegers J. C., 2000. The antimutagenic effects of Ukrain, a *Chelidonium majus* alkaloid derivative, are reversible *in vitro* // Cancer Letters. Vol. 150. P. 85–92.
  39. Pimenta V. M., Nepomuceno J. C., 2005. Genotoxicity testing of *Plantago* major extracts in somatic cells of *Drosophila melanogaster* // Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol. 45. P. 56–61.
  40. Quillardet P. Q., Hofnung M., 1985. The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures // Mutation Research. Vol. 147. P. 65–78.
  41. Reddy B. S., Hamid R., Rao C. V., 1997. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition // Carcinogenesis. Vol. 18. P. 1371–1374.
  42. Richardson M. A., 2001. Biopharmacologic and herbal therapies for cancer: research update from NCCAM // Nutrition journal. Vol. 131. P. 3037–3040.
  43. Samuelson A. B., 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review // Journal of Ethnopharmacology. Vol. 71. P. 1–21.
  44. Samuelsson G., 2004. Drugs of Natural Origin: a Textbook of Pharmacognosy, 5th Ed. Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press. 620 p.
  45. Santos-Cervantes M. E., Ibarra-Zazueta M. E., Loarca-Piña G. F. et al., 2007. Antioxidant and antimutagenic activities of *Randia echinocarpa* fruit // Plant Foods for Human Nutrition. Vol. 62. P. 71–77.
  46. Slater E. E., Anderson M. D., Rosenkranz H. S., 1971. Rapid detection of mutagens and carcinogens // Cancer Research. 1971. 31. N 3. P. 970–973.
  47. Táborská E., Bochoráková H., Dostál J., Paulová H.,

1995. The greater celandine (*Chelidonium majus* L.). A review of present knowledge // Ceská a Slovenská Farmacie. Vol. 44 (2). P. 71–75.
48. Wolff J., Knipling L., 1993. Antimicrotubule properties of benzophenan-349 thridine alkaloids // Biochemistry. Vol. 32. P. 13334–13339.

**EVALUATION OF ANTIGENOTOXIC EFFECTS OF JUICES OF PLANTS *CHELIDONIUM MAJUS* L., *PLANTAGO MAJOR* L. И *TUSSILAGO FARFARA* L.**

N. S. Karamova, D. G. Fatykhova,  
J. R. Abdrakhimova, O. N. Ilinskaya

✿ The antigenotoxic effects of juices of three medicinal plants, *Chelidonium majus* L., *Plantago major* L. and *Tussilago farfara* L.

has been studied in two bacterial tests — SOS chromotest and Rec assay. Antigenotoxic effect was determined against known genotoxic substances — nalidixic acid in SOS chromotest and furacilin in Rec assay. Preparations obtained from the leaves of *Ch. majus* L. exhibited significant antigenotoxic effect in both the SOS chromotest and the Rec assay. It was shown that dilution of the herb juice of *T. farfara* L. resulted in high bioantimutagenic activity in SOS chromotest. *P. major* L. preparations did not display statistically significant antigenotoxic activity in the both tests used. Possible mechanisms of antigenotoxic effects of *Ch. majus* L. and *T. farfara* L. plants obtained are discussed.

✿ **KEY WORDS:** antigenotoxic activity; plant juices; *Chelidonium majus* L.; *Plantago major* L.; *Tussilago farfara* L.; SOS chromotest; Rec assay.

✿ Информация об авторах:

Фатыхова Диана Газинуровна — аспирант. Казанский Государственный Университет. Ул. Кремлевская 18., Казань, Россия. E-mail: fadi@bk.ru.

Карамова Назира Сунагатовна — н. с. Казанский Государственный Университет. Ул. Кремлевская 18., Казань, Россия. E-mail: Nazira.Karamova@ksu.ru.

Абдрахимова Йолдыз Раисовна — к. б. н., доцент каф. физиологии растений. Казанский Государственный Университет. Ул. Кремлевская 18., Казань, Россия. E-mail: yoldez.abdrakhimova@ksu.ru.

Ильинская Ольга Николаевна — зав. кафедрой, д. б. н., профессор. Казанский Государственный Университет. Ул. Кремлевская 18., Казань, Россия. E-mail: Olga.Ilinskaya@ksu.ru.

Fatykhova Diana — post-graduate student. Kazan State University, Kremlevskaya str., 18, Kazan, 420008 Russia. E-mail: fadi@bk.ru

Nazira Karamova — scientific researcher, Ph.D. Kazan State University, Kremlevskaya str., 18, Kazan, 420008 Russia. E-mail: Nazira.Karamova@ksu.ru

Abdrakhimova Yoldez — Ph.D. Kazan State University, Kremlevskaya str., 18, Kazan, 420008 Russia. E-mail: yoldez.abdrakhimova@ksu.ru

Ilinskaya Olga — head of Microbiology Department, professor. Kazan State University, Kremlevskaya str., 18, Kazan, 420008 Russia. E-mail: Olga.Ilinskaya@ksu.ru