

Экспериментальные и клинические исследования**Антимутагенная активность лекарственных растений
Сибирского региона****Ефимов С.Н., Дмитрук С.И., Ильинских Н.Н.****Antimutagenic activity of the Siberian herbs****Yefimov S.N., Dmitruk S.I., Ilyinskikh N.N.***Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск*

© Ефимов С.Н., Дмитрук С.И., Ильинских Н.Н.

Методом микроядерного анализа — подсчета количества эритроцитов с микроядрами в периферической крови мышей — была изучена антимутагенная активность 41 растения Сибири. Из наиболее активных видов были составлены растительные сборы, методом микроядерного анализа выявлен сбор с наибольшей активностью. Наблюдаемое снижение числа микроядер доходило до 1,80%. Антимутагенная активность препаратов из растений обусловлена содержанием витаминов, пигментов, кумаринов, полифенольного комплекса, флавоноидов, терпеновых сапонинов, лактонов и других веществ.

Ключевые слова: радиация, антикластогены, микроядра, лекарственные растения.

The antimutagenic activity of 41 Siberian herbs has been studied with microcores analysis method (calculation of micronucleous erythrocyte number in peripheral blood of mice). The most active species have been composed in herb preparations and the preparation with the most activity has been revealed with microcores analysis method. The microcore number decrease has been observed up to 1,80%. Antimutagenic herb preparation activity is defined by the content of vitamins, pigments, coumarins, polyphenol complex, flavonoids, terpenic saponins, lactones and other compounds.

Key words: radiation, anticlastogenes, microcores, herbs.

УДК 616.155.1–001.2:615.322**Введение**

В современных условиях воздействие ионизирующего излучения на человека возможно как в больших дозах — при авариях на производстве и атомных электростанциях, так и в малых — при проживании населения вокруг атомных энергетических установок, а также вблизи ядерных испытательных полигонов, что может приводить к существенным изменениям генетических структур у людей, проживающих в этих регионах.

Одним из подходов для решения данной проблемы является создание препаратов, обладающих антимутагенной и антикластогенной активностью.

В настоящее время для этой цели используются химически чистые вещества и экстракты из растений. Антикластогенные свойства показаны у десятков разнообразных соединений, в том числе у витаминов, аминокислот, полиаминов, эндогенных антиоксидантов.

В силу того, что чистые химические соединения кроме антикластогенного действия часто обладают побочным эффектом, большой интерес представляют препараты природного происхождения, в частности растительного. Кроме того, процесс получения лекарственных средств из растений зачастую экономически более предпочтителен, чем химический синтез [1, 11].

Материал и методы

Эксперименты проведены на 315 белых беспородных мышах-самцах (не менее 5 в каждой экспериментальной группе) средней массой 18—20 г.

Животные были получены из питомника «Рассвет» НПО «Вирион» (г. Томск). После перевозки животные в течение 2 нед проходили период акклиматизации. Для исключения влияния сезонных колебаний на изучаемые показатели основные исследования были

выполнены в осенне-зимний период. В работе исследовали антикластогенное действие 41 растения и их сборов по отношению к мутагену — ионизирующей радиации. В качестве сырья для приготовления водных экстрактов использовали надземные (листья, трава, плоды) и подземные (корни и корневища) части растений, собранных в регионах Сибири (Томская и Новосибирская области, Алтайский и Красноярский края, Республика Хакасия). Краткая химико-фармакологическая характеристика растений приведена в табл. 1.

Ефимов С.Н., Дмитрук С.И., Ильинских Н.Н. Антимутагенная активность лекарственных растений Сибирского региона

Высушенное сырье измельчали на гомогенизаторе и просеивали через сито. Экстракцию проводили согласно Государственной фармакопее СССР (ГФ СССР) XI издания (1990) [2]. Экстракты готовили *ex tempore*. Водный экстракт вводили из расчета суховоздушной массы внутрижелудочно в дозе 50 мг/кг массы мыши в объеме растворителя 25 мл/кг. Затем животных облучали на рентгеновской установке РУМ-17 (рентгеновская установка медицинская) в дозе 1 Гр в НИИ биологии и биофизики при Томском государственном университете (Томск).

Исследование влияния экстрактов лекарственных растений на частоту эритроцитов с микроядрами в периферической крови у мышей проводили методом микроядерного анализа — подсчета эритроцитов с микроядрами в периферической крови животных [7].

Мазки крови готовили, помещая каплю крови из хвостовой вены животного на сухое обезжиренное предметное стекло. Препараты высушивали на открытом воздухе, фиксировали в абсолютном метиловом спирте в течение 10 мин и окрашивали по Романовскому—Гимзе. На наличие микроядер анализировали 5 000 нормохромных эритроцитов периферической крови. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили общепринятым методом с определением средней арифметической M и ошибки средней арифметической m [4]. Достоверность результатов оценивали с помощью параметрического t -критерия Стьюдента. Кроме того, использовали пакет статистических программ Statistica for Windows 7,0.

Изучение антикластогенной активности природных комплексов биологически активных веществ проводили в два этапа. На первом этапе (скрининг) определяли антикластогенную активность водных экстрактов. На втором — изучали указанную активность экстрактов, полученных из сборов растений.

Результаты и обсуждение

Из представленных на рис. 1 результатов видно, что исследуемые экстракты проявили разные уровни антикластогенной активности. По

данному признаку их можно условно разделить на три группы.

К первой группе отнесены экстракты с низким уровнем антикластогенной активности, которые снижали число микроядер в эритроцитах до 3,83‰ ($p < 0,05$) либо даже несколько увеличивали их количество. В числе указанных источников сырья такие виды, как боярышник кроваво-красный, зверобой продырявленный, калина обыкновенная, клюква болотная, лабазник шестилепестный, можжевельник обыкновенный, рябина черноплодная, серпуха венценосная, хвощи болотный, зимующий, луговой, чага, чистотел большой, шиповник майский.

Экстракты второй группы проявили более высокую активность и снизили количество микроядер в эритроцитах в пределах до 2,95‰ ($p < 0,05$), что дает предпосылки для их дальнейшего изучения. Такую активность проявили суммарные комплексы, полученные из сырья следующих видов: аир обыкновенный, багульник болотный, донник лекарственный, лихнис халцедонский, лопух войлочный, мята перечная, облепиха крушиновидная, пижма обыкновенная, подорожник большой, полынь горькая, рябина обыкновенная, ряска малая, сушеница топяная, тмин обыкновенный, тысячелистник обыкновенный, хвощ полевой, черника обыкновенная, чеснок.

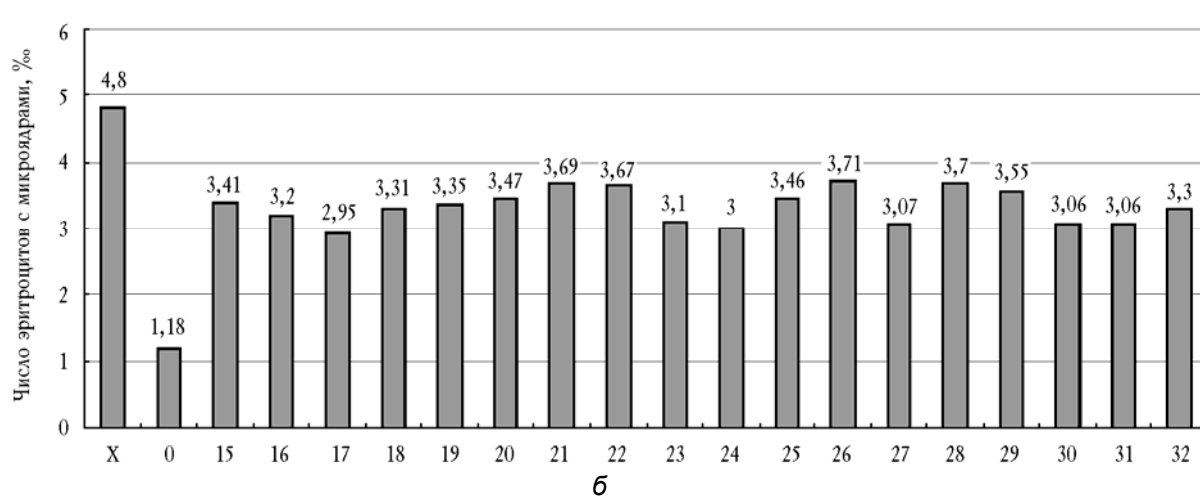
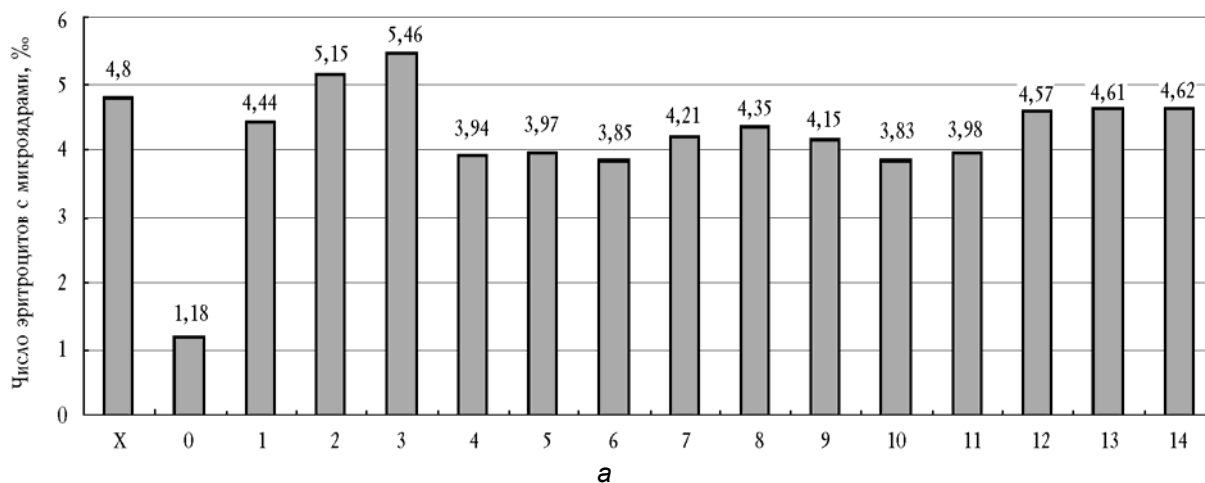
Наиболее выраженные антикластогенные свойства были установлены нами для экстрактов таких известных растений, как валериана лекарственная, календула лекарственная, крапива двудомная, лен обыкновенный, лук репчатый, одуванчик лекарственный, подорожник ланцетный, подорожник средний, хвощ лесной (третья группа).

Именно эффективность биологически активных комплексов растений последней группы послужила в дальнейшем основанием для составления на их основе сборов. При подборе компонентов сбора учитывалась также способность биологически активных веществ (БАВ) растений влиять на основные звенья мутационного процесса (рис. 2) [13].

Для установления оптимального количественного сочетания компонентов было разработано несколько прописей сборов (см. табл. 2), из кото-

рых был выбран оптимальный вариант. Критерием отбора служила антикластогенная активность водных экстрактов, полученных из сырья составленных сборов. Для установления дозозависимого эффекта водные экстракты вводились животным в дозах 25, 50, 100 мг/кг массы мыши в объеме растворителя 25 мл/кг. Использовали два вида кон-

троля: интактных животных, которым вводили дистиллированную воду в объеме 25 мл/кг, и животных, подвергавшихся только действию радиации. Для оценки динамики проявлений фармакологических эффектов забор крови у животных проводили не однократно, как на этапе скрининга, а трижды — на 1-е, 3-и и 5-е сут.



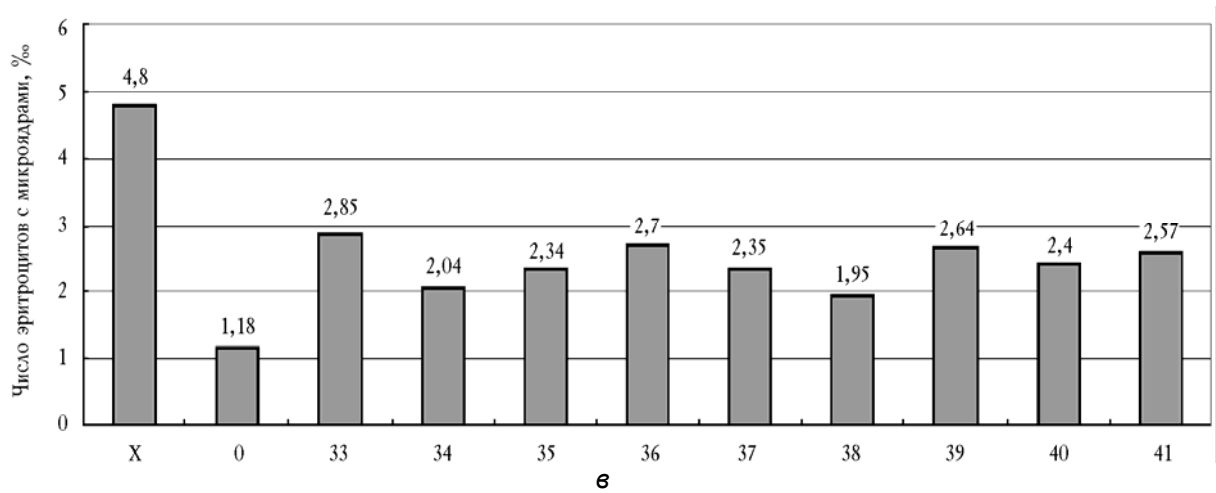


Рис. 1. Уровни антикластогенной активности эритроцитов с микродрамами на фоне введения экстрактов растений: а — группа растений с низкой антикластогенной активностью; б — со средним уровнем активности; в — с выраженным уровнем активности. Цифрами обозначены растения, приведенные в табл. 1. X — число эритроцитов с микродрамами у облученных мышей, 0 — интактные животные

Таблица 2

Количественное соотношение компонентов прописей сборов,

Лекарственное растение	Массовых частей растений					
	Сбор < 1	Сбор < 2	Сбор < 3	Сбор < 4	Сбор < 5	Сбор < 6
Календула лекарственная	5	1	2	3	4	1
Одуванчик лекарственный	4	5	1	2	3	1
Крапива двудомная	3	4	5	1	2	1
Хвощ полевой	2	3	4	5	1	1
Лен обыкновенный	1	2	3	4	5	1

Результаты испытаний представлены в табл. 3, из которой видно, что облучение мышей ионизирующей радиацией в дозе 1 Гр вызывает достоверное повышение числа эритроцитов с микроядрами в периферической крови до 4,96% ($p < 0,05$) в первый день после облучения. В дальнейшем, на 5-е сутки после воздействия мутагена, данный показатель снижается до 4,00% ($p < 0,05$). На этом фоне введение водных экстрактов перед облучением приводило к уменьшению числа микроядер в пределах от 3,76 (в контроле 4,96) до 1,8‰ (в контроле 4,30) ($p < 0,05$). Наиболее активным по результатам эксперимента можно считать сбор < 6 в дозе 50 мг/кг, снизивший в первый день после облучения количество микроядер до 1,82‰ ($p < 0,05$). На 3-и и 5-е сут снижение числа микроядер под влиянием водного экстракта из сбора < 6 составляло 1,80 и 1,92‰ ($p < 0,05$) соответственно. Близкий уровень антикластогенной активности был установлен для сбора < 1 в дозе 100 мг/кг, антикластогенное действие которого более выражено на ранних сроках эксперимента. Остальные виды экстрактов из сборов лекарственного растительного сырья (< 2, 3, 4, 5) показали в эксперименте близкие уровни активности, выраженные в способности снижать число микроядер в эритроцитах до 2,50‰ (в контроле 4,96) ($p < 0,01$).

Исходя из полученных данных, можно утверждать, что экстракт из сбора < 6 обладает выраженными антикластогенными свойствами, что проявляется в его способности значительно снижать частоту индуцированных ионизирующим излучением микроядер в периферической крови мышей.

Таблица 3

Число эритроцитов с микроядрами в крови мышей, подвергнутых воздействию рентгеновского облучения в дозе 1 Гр на фоне введения экстрактов сборов лекарственных растений

Вид эксперимента	Доза, мг/кг	Число эритроцитов с микроядрами, ‰		
		1-е сут	3-и сут	5-е сут
Экстракт из сбора < 1	25	2,56 ± 0,7*	2,62 ± 0,5**	2,40 ± 0,3*
	50	2,44 ± 0,1*	2,46 ± 0,2*	2,60 ± 0,5*
	100	2,40 ± 0,1*	2,60 ± 0,3*	2,00 ± 0,2*
Экстракт из сбора < 2	25	2,78 ± 0,1*	2,86 ± 0,5*	2,98 ± 0,4*
	50	2,52 ± 0,2**	3,00 ± 0,2*	3,40 ± 0,1*
	100	3,26 ± 0,1*	2,50 ± 0,5*	2,80 ± 0,2*
Экстракт из сбора < 3	25	3,76 ± 0,8*	3,52 ± 0,6**	2,82 ± 0,4*
	50	3,40 ± 0,2*	2,90 ± 0,5*	2,80 ± 0,3*
	100	3,50 ± 0,1*	3,40 ± 0,3*	2,80 ± 0,5*
Экстракт из сбора < 4	25	3,04 ± 0,7*	3,24 ± 0,3*	2,84 ± 0,6*
	50	2,74 ± 0,3*	3,00 ± 0,1*	2,50 ± 0,2*
	100	3,40 ± 0,3*	3,20 ± 0,3*	2,90 ± 0,3*
Экстракт из сбора < 5	25	2,66 ± 0,9*	3,28 ± 0,8*	3,12 ± 0,1*
	50	2,54 ± 0,2*	2,80 ± 0,2*	2,60 ± 0,4*
	100	2,50 ± 0,5*	2,50 ± 0,2*	2,40 ± 0,1*
Экстракт из сбора < 6	25	2,04 ± 0,3*	2,36 ± 0,4*	2,28 ± 0,8*
	50	1,82 ± 0,4*	1,80 ± 0,1*	1,92 ± 0,2*
	100	2,20 ± 0,2*	2,50 ± 0,3*	2,20 ± 0,1*
Интактные животные	—	1,22 ± 0,2*	1,42 ± 0,3*	1,40 ± 0,3*
Облученные животные (контроль)	—	4,96 ± 0,6	4,30 ± 0,5	4,00 ± 0,5

Примечание. Состав сборов лекарственных растений приведен в табл. 2.

* Значения, достоверно отличающиеся от контроля при $p < 0,05$.

** При $p < 0,01$.

Таким образом, проведенные испытания позволили расширить спектр действия известных лекарственных растений еще одним видом активности — антикластогенным, т.е. способностью снижать повреждающее действие мутагена на генетический аппарат клетки. Обоснование установленной антикластогенной активности перечисленных растений можно найти в ранее выпол-

ненных исследованиях природных биологически активных веществ и практике применения лекарственного растительного сырья в народной медицине. Так, например, БАВ корней одуванчика лекарственного, оказывающие целенаправленное действие на мутагенез, применяются в народной медицине при раковых опухолях различной локализации [6, 13]. Основные фармакологические эффекты БАВ растения можно связать с наличием в его составе таких групп веществ, как полисахариды, флавоноиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, горечи гликозидного характера (тараксацин и тараксацерин), инулин, жирное масло, состоящее из глицеридов пальмитиновой, олеиновой, линолевой, мелиссовой и церотиновой кислот.

Цветки календулы лекарственной являются концентраторами весьма важных групп биологически активных веществ-антимутагенов. На первом месте среди таких групп находятся каротиноиды, являющиеся главным действующим веществом растения. Считается, что одним из механизмов антимутагенного действия каротиноидов и витамина А является нарушение метаболической активации мутагенов путем конкуренции с цитохромом Р-450. Другим возможным механизмом антимутагенного действия БАВ календулы является их способность обрывать цепную реакцию окисления, нейтрализовывать свободные радикалы — антиоксидантный эффект [1, 13]. Следующая активная в указанном отношении группа БАВ — сапонины. Рядом исследований установлено, что тритерпеновые сапонины интенсивно угнетают метаболизм проканцерогенов. Сапонины календулы оказались сильным ингибитором мутагенеза в тесте Эймса под действием мочи курильщиков [13].

Лекарственное применение препаратов из ноготков известно с XII в. В старинных травниках и лечебниках, не только отечественных, но и зарубежных, Г. Нандельштедт нашел указания о применении толченых листьев и цветков ноготков: наружно — для уничтожения бородавок и мозолей, внутрь — при раке (особенно молочной железы и женской половой сферы). В старинном лечебнике приводится рецепт комплексных про-

тивораковых пилл, в состав которых входит календула [6].

Важный вклад в антикластогенную активность исследуемого сбора вносят и листья крапивы двудомной, так как в них содержится значительное количество витаминов (аскорбиновой кислоты и каротиноидов), хлорофилла и солей железа, которые нормализуют липидный обмен и оказывают стимулирующее действие на эритропоэз [5]. Аскорбиновая кислота, в значительных количествах присутствующая в листьях крапивы, выступает как сильный антиоксидант, обладает выраженной способностью снижать действие мутагенов разных классов, в первую очередь свободных радикалов. Эпидемиологические наблюдения показывают обратную корреляцию между потреблением витамина С и риском заболевания раком. В листьях растения накапливается витамин К, который снижает чистоту спонтанных и индуцированных аберраций хромосом.

Хлорофилл и его водорастворимый дериват хлорофиллин обладают выраженной способностью блокировать активацию промутагенов ферментами микросом, действовать как дисмутаген, образуя неактивные комплексы с мутагенами, а также нейтрализовывать свободные радикалы. Натриевая соль хлорофиллина способна значительно уменьшать морфологическую трансформацию клеток в культуре под действием ряда канцерогенов, не влияя при этом на рост самих клеток [13].

Трава хвоща полевого содержит до 5% тритерпенового сапонины эквизетонина, структура которого пока не установлена. Следующей группой биологически активных веществ являются алкалоиды: никотин, эквизетин (палюстрин) и 3-метоксипиридин, присутствующие в хвоще в незначительных количествах. Содержатся также флавоноидные соединения, в том числе свойственный хвощам эквизетрин, представляющий собой дисахарид флавонола кемпферола [3, 8].

Из БАВ травы хвоща полевого следует обратить внимание также на группу сапонинов и флавоноидов. Так, согласно сведениям М.А. Шлянкевич с соавт. [13], тритерпеновые сапонины интенсивно угнетают метаболизм проканцерогенов. Что же касается флавоноидов, то

они проявляют себя как антиоксиданты, синергичные с аскорбиновой кислотой; способны связывать тяжелые металлы, угнетают перекисное окисление липидов, блокируют связывание активных форм мутагенов с ДНК и угнетают свободнорадикальные реакции [1, 13].

В спектре использования травы хвоща полевого в медицине возможно его применение как противоракового средства, а также средства, способного выводить избыток токсинов и применяемого при хроническом отравлении свинцом.

В народной медицине водный настой и отвар травы хвоща полевого применяют наружно в виде примочек, полосканий, обмываний и аппликаций при различных поражениях кожи, себорее и раковых опухолях различной локализации [3, 6].

В процессе исследований в химическом составе льна обнаружено множество БАВ, достаточно отметить, что содержание витамина Е во льне достигает 0,21 мкг/г, а производных витамина А — 0,17 мкг/г.

В семенах льна также содержатся слизь — 5—12%; жирное масло — 30—48%; белковые вещества — 18—33%. При гидролизе слизи образуются галактоза, галактуроновая кислота, ксилоза, арабиноза и рамноза.

За счет наличия большого количества слизи семена льна обладают обволакивающим, мягким слабительным и противовоспалительным действием, поэтому показаны при болезнях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Слизь препятствует всасыванию из кишечника ядовитых веществ, образующихся при инфекционных заболеваниях и отравлениях. Кроме того, имеются данные, говорящие о возможном дисмутагенном действии слизи [12].

Некоторые авторы указывают, что слизь семян льна применяется при раковых опухолях ЖКТ и при раздражении слизистой кишечника [6].

Таким образом, приведенные данные литературы по химическому составу и фармакологическим свойствам лекарственных растений, результаты антикластогенной активности экстрактов, полученных из них, позволили нам обосновать рациональность применения предлагаемого сбора как лекарственного средства, способного су-

щественно снизить кластогенные последствия радиации.

Литература

1. *Барилляк И.Р., Исаева А.В.* Антимутагенные и генопротекторные свойства препаратов растительного происхождения // *Цитология и генетика*. 1994. *3*. С. 3—17.
2. *Государственная фармакопея СССР*. Одиннадцатое издание. М.: Медицина. 1990. Т. 2. С. 160—161.

3. Коломиец Н.Э. Сравнительное химико-фармакологическое исследование растений рода *Equisetum*: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Томск, 2003. 24 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1990.
5. Лежнева Л.П. Исследования по расширению области использования крапивы двудомной в медицине: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск, 1986. 22 с.
6. Балицкий К.П., Воронцова А.Л. Лекарственные растения и рак. Киев: Наук. думка, 1982. 376 с.
7. Ильинских Н.Н., Новицкий В.В., Ванчугова Н.Н., Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск, 1992. 272 с.
8. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия: Учебник. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2002. 656 с.
9. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство *Asteraceae* (*Compositae*). СПб.: Наука, 1984. 352 с.
10. Растительные ресурсы СССР: Цветковые расте-
ния, их химический состав, использование; Семейство *Magnoliaceae* — *Limonaceae*. Л.: Наука, 1984. 460 с.
11. Салихова Р.А., Дулатова Ш.Н., Порошенко Г.Г. Изучение антимуtagenных свойств дудника лекарственно-го (*Angelica archangelica* L.) микроядерным тестом // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1993. < 4. С. 371—372.
12. Антимутагены и профилактика рака / В.В. Худолей, И.В. Мизгирев, И.Г. Майорова // Актуальные вопросы онкологии: Сб. научн. трудов, посвященный 15-летию кафедры онкологии АГМИ. Барнаул, 1992. С. 66—88.
13. Использование пищевых продуктов и лекарственных растений для профилактики злокачественных опухолей / М.А. Шлянкевич, А.В. Сергеев, З.Ф. Голубева // Актуальные вопросы онкологии: Сб. научн. трудов, посвященный 15-летию кафедры онкологии АГМИ. Барнаул, 1992. С. 109—140.

Поступила в редакцию 09.02.2004 г.