

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ, КАК ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С АНТИМУТАГЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ, В КОМПЛЕКСНОЙ ПРОФИЛАКТИКЕ ПОСЛЕДСТВИЙ ТАБАКОПОТРЕБЛЕНИЯ**

*Адамович А.В., Шевляков В.В., Цыганков В.Г., Дудчик Н.В.*  
*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,  
Беларусь, Минск*

*В статье представлены результаты исследования антимутагенных свойств водных экстрактов лекарственных растений, их комбинаций с фармпрепаратами и водных экстрактов из образцов профилактических жевательных композиций для минимизации последствий табакопотребления. В тесте, основанном на модификации планшетного варианта теста Эймса (FAT-тест), изучена антимутагенная активность исследуемых водных экстрактов в отношении комплекса мутагенов табачных изделий.*

*Ключевые слова:* FAT-тест, вытяжка из табачных изделий, антимутагенное действие, фитоэкстракты.

## **PROSPECTS FOR THE USE OF MEDICINAL PLANTS AS A SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES WITH ANTIMUTAGENIC PROPERTIES IN COMPLEX PREVENTION OF TOBACCO USE CONSEQUENCES**

*Adamovich A.V., Shevlyakov V.V., Tsygankov V.G., Dudchik N.V.*  
*Republican unitary enterprise «Scientific practical center of hygiene»,  
Belarus, Minsk*

*The article presents the results of a study of antimutagenic properties of medicinal plants aqueous extracts, their combinations with pharmaceuticals and aqueous extracts from samples of prophylactic chewable compositions to minimize the consequences of tobacco consumption. In the test, based on the modification of the tablet version of the Ames test (FAT), the antimutagenic activity of the investigated aqueous extracts was studied with respect to the mutagen complex of tobacco products.*

*Key words:* FAT, tobacco extract, antimutagenic effect, phytoextracts.

По мнению специалистов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), употребление табака является одним из 5 основных факторов риска развития неинфекционных заболеваний. Научно доказана связь

табакопотребления с развитием заболеваний пищеварительной, сердечно-сосудистой, респираторной и других систем организма, а так же онкологических заболеваний. Так, употребление табака является причиной почти 22% глобальных случаев смерти от рака. [1,2]

Длительное комбинированное действие на организм комплекса ксенобиотиков табачных изделий обуславливает развитие многочисленных физиологических нарушений, которые в условиях отсутствия адекватной коррекции могут приводить к развитию заболеваний, а негативное воздействие на генетический аппарат, создавать потенциальные риски, не только для здоровья самого человека, но и его потомков.

В этой связи, важное значение имеет поиск новых малотоксичных средств с протекторными свойствами. В этом плане интерес представляют препараты на основе растительного сырья, которые обладают широким спектром фармакологической активности на фоне относительно низкой токсичности. Комплексы биологически активных веществ (БАВ), содержащихся в лекарственных растениях, обуславливают наличие у них различных протекторных свойств (антиоксидантная, иммуномодулирующая, противовоспалительная, антимутагенная активность и др.), причем некоторые соединения могут реализовывать защитное действие одновременно по нескольким механизмам [3]. Это позволяет рассматривать лекарственные растения в качестве перспективного сырьевого источника для фармакологической промышленности.

**Целью** настоящего исследования была оценка антимутагенных свойств средств на основе различных лекарственных растений: водных фитоэкстрактов, комбинаций фитоэкстрактов с фармпрепаратами, а так же водных вытяжек из образцов оригинальных жевательных композиций для минимизации последствий табакопотребления в молодом возрасте.

**Материалы и методы.** Антимутагенную активность исследуемых образцов оценивали с использованием модификации планшетного FAT-теста (High Throughput Fluctuation Ames Test) [4] с ауксотрофными по гистидину тест-штаммом *Salmonella typhimurium* TA100 в условиях отсутствия метаболической активации. Модификация заключалась в дополнительном внесении на этапе преинкубации мутагена для стимуляции мутагенеза. В качестве индуктора мутагенеза был использован водный экстракт из табачных изделий (ВЭТИ) в концентрации 2,8 мг/см<sup>3</sup> по суммарному содержанию алкалоидов, мутагенное действие которого, в отношении у казанного штамма, было доказано в сравнительных исследованиях со стандартным мутагеном (азидом натрия) [5].

Были исследованы следующие водные экстракты: сирени юньнаньской, сирени волосистой, сирени амурской, фитокомпозиция №1 (кипрей узколистный, тимьян ползучий, мята перечная, шалфей лекарственный, пустырник обыкновенный, мелисса лекарственная в равных соотношениях),

фитокомпозиция №2 (кипрей узколистный, тимьян ползучий, мята перечная, родиола розовая, лимонник китайский в равных соотношениях), фармкомпозиция №1 (фитокомпозиция №1 с включением растворов мексидола и глицина), фармкомпозиция №2 (фитокомпозиция №2 с включением растворов мексидола и глицина), а так же водные экстракты лабораторных образцов ПЖК №1 и ПЖК №2, включающие компоненты фармкомпозиций №1 и №2 соответственно, комплексы витаминов (В1, В2, В9, С, Е) и вспомогательные вещества [6, 7].

Приготовление рабочей суспензии тест-организма и исследование антимуtagenного действия образцов проводили по протоколу, изложенному в инструкции по применению «Методы оценки антиоксидантной, антибактериальной и антимуtagenной активности биологически активных веществ растительного происхождения» [4].

Наличие антимуtagenного эффекта экстракта определяли по снижению частоты индукции обратных мутаций от ауксотрофности по гистидину к прототрофности при его воздействии на тест-штамм совместно с ВЭТИ.

Для более точной количественной оценки антимуtagenных свойств исследованных экстрактов, рассчитывали индекс антимуtagenной активности ( $I_m$ ) формуле:

$$I_m = 100 - (N_1/N_2) \times 100,$$

где  $N_1$  – число лунок, содержащих ревертанты, в опыте,  $N_2$  – число лунок, содержащих ревертанты, в позитивном контроле (ВЭТИ).

При этом, снижение частоты индуцированных реверсий менее чем на 25 % расценивалось как отсутствие антимуtagenной активности, на 25-40 % – умеренная, более чем на 40 % – выраженная антимуtagenная активность [4].

**Результаты и их обсуждение.** Лекарственное действие многих растений известно с давних пор, что определяет их широкое распространение в народной медицине. Как известно, фармакологическая активность лекарственных растений, обеспечивается широким спектром БАВ, содержащихся в растительном сырье. Наиболее важными из них являются: алкалоиды, сердечные гликозиды, сапонины, дубильные вещества, смолы, эфирные масла, камеди, витамины, фитонциды и др.

Особое место среди БАВ лекарственных растений занимают фенольные соединения, выделенные в отдельный класс, – фенилпропаноиды, включающие несколько структурно различающихся групп: гликозилированные фенилпропаноиды, флавоноиды, изофлавоноиды, кумарины, стильбеноиды, куркуминоиды и лигнаны [8]. По данным различных исследований, биологические/фармакологические свойства фенилпропаноидов позволяют рассматривать их в качестве перспективных компонентов адаптогенных, иммуномодулирующих, тонизирующих, антиоксидантных лекарственных средств [3, 9, 10]. Кроме того, препараты на основе фенилпропаноидов, обладающие нейротропной и адаптогенной активностью, интересуют

исследователей в плане возможности применения их как ноотропных, анксиолитических и антидепрессантных лекарственных средств. Так же актуальным направлением является исследование антимуtagenных и антиканцерогенных свойств фенилпропаноидных соединений.

Из литературных источников известно, что фенилпропаноидные соединения встречаются у широкого круга лекарственных растений, относящихся к разным таксономическим группам: расторопши пятнистой, родиолы розовой, Melissa лекарственной, элеутерококка колючего, лимонника китайского, различных видов сирени и др. [9,11]. Большинство из этих растений являются так же источником БАВ других классов (витамины, терпеноиды, жирные кислоты и др.), проявляющих антимуtagenные свойства, что делает их перспективными объектами для создания фармакологических средств для минимизации негативного воздействия химических соединений (ксенобиотиков) на генетический аппарат человека, в том числе в комплексной терапии и профилактике последствий табакопотребления.

Для оценки возможности использования лекарственных растений для минимизации отдаленных негативных последствий табакопотребления (мутагенез, канцерогенез), была исследована способность вышеуказанных фитопрепаратов снижать уровень стимулированного водным экстрактом из табачных изделий мутагенеза. Обоснованность использования ВЭТИ в качестве индуктора мутагенеза была показана нами в предыдущих исследованиях [5,12].

Результаты исследования образцов представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Результаты визуального учета частоты мутационных событий при совместном воздействии ВЭТИ и исследуемых образцов (Хср)

Опыт	<i>S. typhimurium</i> TA100	
	ДПЛ <sup>1</sup>	ДОЛ <sup>2</sup>
Отрицательный контроль (стерильная вода) <sup>3</sup>	23,8	76,2
Положительный контроль (ВЭТИ) <sup>3</sup>	89,9	10,1
Сирень юннаньская	93,8	6,2
Сирень волосистая	52,1	47,9
Сирень амурская	91,7	8,3
Фитокомпозиция №1	45,3	54,7
Фитокомпозиция №2	47,2	52,8
Фармкомпозиция №1	66,7	33,3
Фармкомпозиция №2	61,5	38,5
Экстракт ПЖК №1	84,0	16,0
Экстракт ПЖК №2	64,6	35,4

<sup>1</sup> ДПЛ – доля положительных лунок (%), в которых имели место спонтанные и/или индуцированные мутагеном или исследуемым ВЭТИ обратные мутации;

<sup>2</sup> ДОЛ – доля отрицательных лунок (%), в которых не было отмечено мутационных событий.

<sup>3</sup> приведены усредненные данные контролей по всем исследованиям

Как видно из данных, представленных в таблице 1, в использованном режиме эксперимента ВЭТИ является эффективным индуктором мутагенеза. При интерпретации результатов в тесте Эймса, мутагенная активность считается подтвержденной в случае, если для исследуемого вещества отмечено дозозависимое увеличение числа ревертантов и/или частота реверсий вдвое (для штамма *S. typhimurium* TA100) или более раз превышает спонтанное мутирование (отрицательный контроль) [13]. При добавлении к ауксотрофным тест-бактериям ВЭТИ, частота возникновения реверсий к прототрофности у них увеличилась почти в 4 раза, что сопоставимо с действием стандартного мутагена – азида натрия, при внесении которого, ДПЛ в наших исследованиях изменялась в диапазоне 90-95%.

Как видно по показателю ДПЛ, при совместном инкубировании ВЭТИ с водными фитоэкстрактами, исследуемые образцы проявили разную антимутагенную активность. Водные экстракты сирени юньнаньской и амурской не влияли на уровень индуцированного ВЭТИ мутагенеза, остальные экстракты снижали уровень индуцированных мутаций на 5,9-44,6% по сравнению с усредненным положительным контролем. Однако поскольку частота индуцированных мутаций коррелирует с уровнем спонтанного мутирования, для более точной оценки были рассчитаны индексы антимутагенной активности ( $I_m$ ) для всех исследованных образцов с их собственными контролями (табл. 2).

Таблица 2. Оценка антимутагенного потенциала исследованных фитопрепаратов при совместном инкубировании с ВЭТИ ( $X_{cp}$ )

Опыт	$I_m$ , %
Сирень волосистая	25,0
Фитокомпозиция №1	52,6
Фитокомпозиция №2	44,2
Фармкомпозиция №1	28,1
Фармкомпозиция №2	33,7
Экстракт ПЖК №1	12,4
Экстракт ПЖК №2	48,3

Как видно из результатов, представленных в таблице 2, исследованные образцы можно разделить на 3 группы с различной антимутагенной активностью.

Совместное инкубирование с ВЭТИ экстрактов сирени юньнаньской и амурской не оказывали позитивного влияние на уровень мутагенеза, частота выявления лунок с ревертантными микроорганизмами была даже несколько выше, чем при использовании только ВЭТИ. Исследования в аналогичном режиме при использовании азида натрия в качестве индуктора мутагенеза,

показали сходные результаты. Индекс антимутагенной активности экстракта ПЖК №2 на фоне внесения ВЭТИ составил 12,4%, что, однако, является недостаточным для заключения о наличии у него антимутагенных свойств.

Вторую группу составили образцы, проявившие умеренную антимутагенную активность. В частности, фармкомпозиции №1 и №2 заметно снижали уровень индуцированных ВЭТИ мутаций,  $I_m$  для них составил 28,1% и 33,7% соответственно. Индекс антимутагенной активности для экстракта сирени волосистой был на уровне нижней границы (25%), однако следует отметить, что при использовании азидо натрия в качестве индуктора мутагенеза,  $I_m$  данного экстракта составил 50,3%, что является свидетельством выраженной антимутагенной активности.

Наконец, в группу с наиболее выраженной антимутагенной активностью вошли фитокомпозиции №1 и №2, а так же экстракт ПЖК №2. Причем, при исследовании фитокомпозиций №1 и №2 на фоне индукции мутагенеза азидом натрия, их  $I_m$  были еще выше и составили 63,4% и 72,6% соответственно.

Данные сравнительных исследований показывают, что при наличии у исследованных водных экстрактов антимутагенной активности, она была более выражена на фоне совместного инкубирования со стандартным мутагеном (азидом натрия). Можно предположить, что менее выраженное антимутагенное действие при внесении ВЭТИ связано с многокомпонентным составом водного экстракта из табачных изделий. Наличие в ВЭТИ комплекса химических мутагенов разной природы предполагает возможность реализации различных механизмов повреждающего действия (воздействие на третичную структуру ДНК, окислительный стресс, ингибирование ферментов репликации, репарации и т.д.) [14], что, в свою очередь, требует различных подходов к минимизации этого действия.

Одним из вероятных механизмов выявленного антимутагенного действия исследованных экстрактов (особенно фитоэкстрактов) может быть их антиоксидантная активность. Как показывают различные исследования, многие лекарственные растения являются источником фенольных соединений, являющихся наиболее активными натуральными антиоксидантами, а так же флавоноидов, дубильных веществ, витаминов и других органических соединений, способных защищать ДНК от окислительного повреждения. Так, например, для ряда лекарственных трав, входящих в состав фитокомпозиций, показано высокое (родиола розовая, лимонник китайский, мята перечная, шалфей лекарственный, Melissa лекарственная) или умеренное (кипрей узколистный) суммарное содержание антиоксидантов различной химической природы [3,9,11]. Кроме того, из трех исследованных экстрактов сирени, наибольшей антиоксидантной активностью обладал экстракт сирени волосистой, обнаруживший антимутагенное действие в отношении ВЭТИ и азидо натрия.

Препараты мексидол и глицин, входящие в состав фармкомпозиций №1 и №2 известны как средства антиоксидантного, антитоксического действия [15, 16]. Мексидол, кроме того, обладает антигипоксическими, мембраностабилизирующими, адаптогенными, ингибирующими свободнорадикальные процессы окисления липидов свойствами [15], что теоретически могло усилить протекторные свойства фитокомпозиций. Тем не менее, введение в состав указанных фармпрепаратов не привело к повышению антимутагенного потенциала исследуемых образцов: индекс антимутагенной активности фармкомпозиций №1 и №2 был ниже, чем у соответствующих фитокомпозиций.

В то же время, экстракт ПЖК №2 показал несколько более выраженное антимутагенное действие, чем фитокомпозиция №2, что, вероятно, можно объяснить синергическим действием активных БАВ фитокомпонентов и комплекса витаминов в составе ПЖК (в частности, витаминов-антиоксидантов В1, С и Е).

Таким образом, по результатам проведенных исследований установлено, что из всех исследованных образцов наиболее выраженным антимутагенным действием обладают фитокомпозиции №1 и №2, а так же экстракт ПЖК №2. При этом антимутагенное действие было выражено как в отношении стандартного мутагена азид натрия, так и в отношении комплекса токсикантов ВЭТИ. С учетом разнопланового позитивного действия (источник витаминов, традиционное использование в терапии заболеваний респираторной, сердечно-сосудистой и других систем), полученные результаты обосновывают перспективность использования препаратов на основе фитокомпонентов антимутагенного действия в профилактике и терапии последствий табакопотребления. Данный подход к комплексной профилактике последствий табакопотребления был предложен в инструкции по применению «Психомедикаментозная профилактика и лечение последствий табакокурения у лиц молодого возраста» [17].

#### Список литературы

1. Табак. Информационный бюллетень ВОЗ, 9 марта 2018 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>. – Дата доступа: 20.06.2018.
2. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 / GBD 2015 Risk Factors Collaborators // The Lancet. – 2016. – Vol. 388, № 10053. – P. 1659-1724.
3. Антиоксидантные свойства культурных растений Калининградской области : монография / Г. Н. Чупахина [и др.]. – Калининград : Изд-во БФУ им. И. Канта, 2016. – 145 с.

4. Методы оценки антиоксидантной, антибактериальной и антимутагенной активности биологически активных веществ растительного происхождения : инструкция № 007-1018 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 19.12.18. – Минск: РУП «Науч.-практ. центр гигиены», УО «Белгосуниверситет», 2018. – 24 с.

5. Оценка мутагенного потенциала комплекса водорастворимых субстанций табачных изделий / А.В. Адамович [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохр. Респ. Беларусь, Респ. унитар. предприятие «Науч.-практ. центр гигиены» ; гл. ред. С.И. Сычик. – Минск: РНМБ, 2017. – Вып. 27. – С. 150–152.

6. Жевательная композиция с антиникотиновым эффектом: пат. ВУ 10681 С1 / Е.А. Римжа, А.В. Бокач, И.В. Тарасюк. – Оpubл. 30.06.2008.

7. Антиникотиновая жевательная композиция : пат. ВУ 10682 С1 / А.В. Бокач, Е.А. Римжа, И.В. Тарасюк. – Оpubл. 30.06.2008.

8. Костюк, В.А. Структура, классификация и фармакологические свойства природных полифенольных антиоксидантов / В.А. Костюк, А.И. Потапович // Свободные радикалы в химии и жизни: сб. тез. докл. Междунар. конф., Минск, 25-26 июня 2015 г. – Минск : Изд. центр БГУ, 2015. – С.14-16.

9. Куркин, В.А. Фенилпропаноиды как важнейшая группа биологически активных соединений лекарственных растений / В.А. Куркин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 12. – С.1338-1342.

10. Кудрявцев, Г.П. Химия природных соединений : учеб.-метод. комплекс для студ. биол. спец. / Г.П. Кудрявцев, О.В. Мусатова ; отв. ред. А.А. Чиркин. – Витебск: УО «ВГУ им. П. М. Машерова», 2009. – 232 с.

11. Куркин, В.А. Фармакогностическое исследование лекарственных растений рода родиола, элеутерококк, сирень, ива, содержащих фенилпропаноиды / В.А. Куркин // Современные аспекты изучения лекарственных растений: Научные труды. М., 1995. – С.81-86.

12. Оценка в краткосрочном тесте генопротекторного действия фитоэкстрактов в отношении индуцированного водным экстрактом из табачных изделий мутагенеза / А.В. Адамович [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / под общ. ред. Н.П. Жуковой ; гл. ред. С.И. Сычик. – Минск: РНМБ, 2018. – Вып. 28. – С.121-125.

13. Hajime Improvement and Evaluation of High Throughput Fluctuation Ames Test Using 384-well Plate with Salmonella typhimurium TA100 and TA98 / Hajime Sui [et al.] // Genes and Environment. – 2009. – Vol. 31, № 2. – P.47-55.

14. Сабилов, Ж.Б. Пути возникновения структурных мутаций при химической природе мутагенеза / Ж.Б. Сабилов // Гигиена труда и медицинская экология. – 2015. – № 2 (47). – С. 26-31.



15. Воронина, Т.А. Антиоксидант Мексидол. Основные эффекты и механизм действия / Т.А. Воронина // Психофармакология и биология. Наркология. – 2001. – № 1. – С.2-12.

16. Влияние глицина на интенсивность перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной системы в динамике экспериментального инфаркта миокарда / Н.М. Юлдашев [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10, ч. 6. – С.1284-1287.

17. Психомедикаментозная профилактика и лечение последствий табакокурения у лиц молодого возраста: инструкция по применению № 004-0107 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 11.04.08. – Минск: ГУО «БелМАПО», 2008. – 19 с.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ