

Колумбаева С.Ж.,
Ловинская А.В., Жусупова А.И.,
Рахимжанова А.А.,
Илиясова А.И., Муратова А.Т.

Казахский национальный университет
имени аль-Фараби, Казахстан, Алматы

**Токсическая и мутагенная
активность биологически
активных веществ из растений
Limonium gmelinii семейства
Plumbaginaceae
(= *Limoniaceae lincz.*)**

Kolumbaeva S.Zh.,
Lovinskaja A.V., Zhusupova A.I.,
Rahimzhanova A.A.,
Ilijasova A.I., Muratova A.T.
Kazakh National University by al-Farabi,
Kazakhstan, Almaty

**Toxic and mutagenic effect of
biologically active substances
from *Limonium gmelinii* (family
Plumbaginaceae (= *Limoniaceae*
lincz.))**

Колумбаева С.Ж.,
Ловинская А.В., Жусупова А.И.,
Рахимжанова А.А.,
Илиясова А.И., Муратова А.Т.

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық
университеті, Қазақстан, Алматы

***Plumbaginaceae* (= *Limoniaceae*
lincz.) туысы *Limonium gmelinii*
өсімдігінен алынған биология-
лық белсенді заттардың токсикалық мутагенді белсенділігі**

Выделены биологически активные вещества из подземной и надземной частей растений кермека Гмелина (*Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze, сем. *Plumbaginaceae*). Определены показатели доброкачественности кермека (влажность, общая зола); показатели экстрактивных веществ, аминокислотный и жирнокислотный состав. Проведена идентификация основных групп биологически активных веществ (БАВ). Изучено токсическое и мутагенное действие биологически активных веществ из надземной и подземной частей растений *Limonium gmelinii* на семена ячменя в тесте по учету всхожести семян и хромосомных aberrаций в клетках корневой зародышевой меристемы. Установлено, что комплекс БАВ в использованных концентрациях (25,0; 50,0 и 100,0 мг/л) не оказывал фитотоксического и мутагенного действия. Обработка семян ячменя водными растворами экстрактов при всех концентрациях не снизило их всхожести по сравнению с контрольными растениями. Частота структурных нарушений хромосом и число хромосомных aberrаций на 100 просмотренных метафаз в клетках корневой зародышевой меристемы семян ячменя, обработанных водными растворами БАВ, статистически значимо не отличались от аналогичных показателей у необработанных растений.

Ключевые слова: биологически активные вещества, мутаген, хромосомные aberrации, кермек Гмелина, метафаза.

It was obtained biologically active substances (BAS) of the underground and above-ground parts of plants *Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze (family *Plumbaginaceae*). Purity indicators (moisture, total ash); extractive substance indicators by different polarities solvents, amino acid and fatty acid composition from *Limonium gmelinii* was determined. Toxic and mutagenic effects of biologically active substances from the above-ground and below-ground parts of plants *Limonium gmelinii* was studied by barley seed germination test and barley root tip chromosome aberration assay. It is found that the biologically active substances in the concentrations (25.0, 50.0 and 100.0 mg/l) had no phytotoxic and mutagenic action. Barley seed was treated with aqueous solutions of biologically active substances from the underground and above-ground parts of *Limonium gmelinii* at all concentrations. This treatment did not reduce their germinating ability of seeds as compared to control plants grown in distilled water. The frequency of structural chromosome aberrations and the number of chromosomal aberrations per 100 metaphases in root tip cells of barley seeds treated with aqueous solutions of biologically active substances, did not significantly differ from untreated seeds. At the same time, the classical mutagen methyl methanesulfonate, using as a positive control, increased the studied parameters in several times not only compared with the control, but also the seeds treated with aquatic solutions of the biologically active substances.

Key words: biologically active substances, mutagenic, chromosome aberrations, *Limonium gmelinii*, metaphase.

Гмелин кермек (*Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze, туысы. *Plumbaginaceae*) өсімдігінің жер асты және жер үсті бөліктерінен биологиялық белсенді заттар бөлінді. Кермектің сапалық көрсеткіштері (ылғалдылығы, жалпы күлі); сығынды заттардың көрсеткіштері, аминқышқылды және майқышқылды құрамы анықталды. Биологиялық белсенді заттардың (ББЗ) негізгі топтарының сәйкестігі жүргізілді. *Limonium gmelinii* өсімдігінің жер асты және жер үсті бөліктерінен алынған биологиялық белсенді заттардың токсикалық және мутагенді әсері дәндердің өнгіштігі және ұрық тамыр меристемасы клеткаларындағы хромосомалық aberrациялар саны бойынша арпа дәндеріне жүргізілген тестте зерттелді. ББЗ кешені қолданылған концентрацияда (25,0; 50,0 и 100,0 мг/л) фитотоксикалық және мутагенді әсер көрсетпейтіндігі бекітілді. Арпа дәндерін сығындылардың сулы ерітіндісінің барлық концентрациясымен өңдеу бақылау өсімдіктерімен салыстырғанды олардың өнгіштігін төмендетпеді.

Түйін сөздер: биологиялық белсенді заттар, мутаген, хромосомалық aberrациялар, Гмелин кермек, метафаза.

**ТОКСИЧЕСКАЯ И
МУТАГЕННАЯ
АКТИВНОСТЬ
БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
ИЗ РАСТЕНИЙ
LIMONIUM GMELINII
СЕМЕЙСТВА
PLUMBAGINACEAE
(= *LIMONIACEAE*
LINCZ.)**

Введение

Кризисная экологическая ситуация, характерная для многих регионов мира, обусловлена, прежде всего, загрязнением окружающей среды (ОС) продуктами хозяйственной деятельности человека. Практически все загрязнители ОС могут оказывать мутагенное и токсическое действие на живые организмы в результате активации процессов образования внутриклеточных свободных радикалов, ингибирования активности репаративных ферментных систем или непосредственного взаимодействия с молекулами ДНК [1-3]. Кроме того, система поддержания равновесия ДНК постепенно деградирует, проявляясь в нестабильности генома и нарастании числа ДНК-аддуктов [4, 5]. Однако исключить контакт человека с токсическими и мутагенными факторами практически невозможно, поэтому большое значение приобретает поиск эффективных протекторов, в числе которых биологически активные вещества природного происхождения.

Изучение лекарственных растений в качестве перспективных источников биологически активных веществ, обладающих антимутагенной и антиоксидантной активностью, значительно активизировалось и возросло в последние годы, что обусловлено низкой токсичностью и аллергенностью БАВ, комплексным воздействием на организм и возможностью длительного применения без побочных эффектов [6, 7]. Тем не менее, исследования показывают, что лекарственные растения могут обладать мутагенной и антимутагенной активностью в зависимости от дозы применения [8-11].

На территории Казахстана произрастают различные виды лекарственных растений, в числе которых кермек (*Limonium*) семейства свинчатковых (*Plumbaginaceae*), который обладает высоким содержанием полифенолов, витаминов и оказывает антиоксидантное действие. На основе экстрактов из *Limonium gmelinii* профессором Жусуповой Г.И. уже создана заживляющая мазь «Санжар» (Лимонидин), обладающая антимикробным действием.

Целью настоящего исследования явилось изучение токсической и мутагенной активности экстрактов из подземной и

надземной частей кермека Гмелина (*Limonium gmelinii*), эффективно продуцирующих биологически активные вещества, для дальнейшего изучения антимуагенного потенциала данного вида растений.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили семена ярового двурядного ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Байшешек, районированного в Алматинской

области. Широкое использование семян ячменя для цитогенетических исследований объясняется, прежде всего, малым числом хромосом – 7 пар ($2n = 14$). Хромосомы культурных ячменей довольно крупные, длина достигает от 6 до 8 микрометров (рисунок 1). Ячмень обладает низкой частотой спонтанного мутирования и одновременно достаточно высокой чувствительностью к внешним повреждающим воздействиям, что делает его уникальным тест-объектом для индикации биологического действия ксенобиотиков [12].

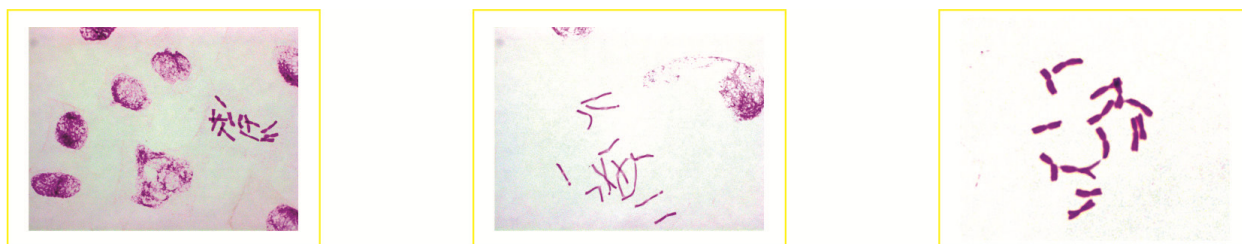


Рисунок 1 – Метафазные пластинки ячменя в норме ($2n=14$), x 400

В качестве испытуемых веществ на токсическую и мутагенную активность были взяты водные растворы экстрактов из подземной и надземной частей растений кермека Гмелина (*Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze, сем. *Plumbaginaceae*).

Были проведены полевые экспедиционные исследования для заготовки растительного сырья лекарственных видов растения рода *Limonium* (*Plumbagenaceae*) в естественных условиях произрастания (в Райымбекском районе Алматинской области и в Шиелийском районе Кызылординской области) для их последующего фитохимического исследования.

По общепринятым методикам ГОСТов и Государственной Фармакопеи Казахстана (ГФ РК) были определены показатели доброкачественности *Limonium gmelinii* (влажность, общая зола); показатели экстрактивных веществ разнотипными растворителями (водой, 70% водно-этиловым, 90% водно-этиловым, 50% водным ацетоном, ацетоном, хлороформом), аминокислотный и жирнокислотный состав [13, 14].

Для идентификации биологически активных веществ использовали методы одно- и двумерной бумажной, тонкослойной хроматографии на закрепленном слое сорбента. Для количественного определения основных групп БАВ использовали методы экстракции, титрования, УФ-спектрометрии.

Для выделения биологически активных соединений проведен подбор растворителей, оптимизирован технологический режим. С целью оптимизации процесса экстракции биологически активных веществ, изучено влияние соотношений: сырье-растворитель, время экстракции, температура.

Состав аминокислот определяли на аминокислотном анализаторе «Карло Эрба» (Carlo Erba, Италия) по известной методике по времени удерживания стандартных образцов [14].

Методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «CARLO ERBA – 4200» (Carlo Erba, Италия) был проведен сравнительный компонентный анализ и определено количественное содержание жирных кислот изученных образцов растений.

Флавоноиды в пересчете на кверцетин определяли по стандартным методикам [14], а определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье проводили согласно ГОСТ 24027.2-80 [13].

Токсичность определяли по всхожести семян. В опытах по изучению мутагенной активности в качестве положительного контроля использовали классический мутаген метилметансульфонат (ММС, $C_2H_6O_3S$), являющийся алкилирующим агентом прямого действия и обладающим мутагенной актив-

ностью в стандартных краткосрочных тестах *in vivo* и *in vitro*. Он индуцирует SOS-ответ в умутесте на *S. typhimurium* TA1535/pSK1002, индуцирует точковые мутации у бактерий без метаболической активации. У дрозофилы ММС вызывает соматические и сцепленные с полом рецессивные летальные мутации. Вызывает повреждения ДНК в культуре альвеолярных макрофагов кролика и гепатоцитов крыс; неплановый синтез ДНК в эпителии трахеи крыс, первичных гепатоцитах крыс, мышей, хомяков и эпидермальных кератиноцитах мышей *in vitro*. Он увеличивает частоту сестринских хроматидных обменов и хромосомных aberrаций, вызывает неопластическую трансформацию в культурах клеток грызунов. На клетках человека *in vitro* индуцирует одноцепочечные разрывы и внеплановый синтез ДНК, генные мутации, микроядра и сестринские хроматидные обмены. *In vivo* метилметансульфонат вызывает мутации в половых клетках мышей, а в соматических клетках грызунов – ДНК-повреждения, сестринские хроматидные обмены, хромосомные aberrации. Обоснованность выбора ММС в качестве положительного контроля как генотоксического фактора – чрезвычайно широкий спектр генетической активности в различных тест-системах [15].

В работе были использованы водные растворы ММС в концентрациях 1,0 и 5,0 мг/л. Водные растворы экстрактов растений были использованы в концентрациях 25,0; 50,0 и 100 мг/л. Обработка каждым веществом проводилась в течение 4-х часов. После каждой обработки семена промывали, слегка подсушивали и проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой, при $t = 25 \pm 1^\circ\text{C}$ в условиях термостата.

Для определения мутагенной активности исследуемых экстрактов растений был использован тест по учету хромосомных aberrаций. Цитогенетический тест информирует о частоте и типах структурных перестроек (aberrаций) хромосом и об изменениях в их числе. Для изучения соматических хромосом на стадии митоза, кариотипирования и учета хромосомных перестроек используется меристематическая ткань кончика корня [16].

За 4 часа до первой фиксации семена перенесли на 0,01% раствор колхицина для накопления метафазных пластинок. В качестве фиксатора использовали раствор этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Во всех вариантах проводили по 4 фиксации с интервалом в 3

часа. В качестве красителя использовался водный раствор фуксинсернистой кислоты. Перед окрашиванием зафиксированные корешки отмывали от фиксатора в нескольких порциях дистиллированной воды, затем помещали в холодный раствор HCl, разбавленный 1:1 водой, и выдерживали 40 минут. После тщательной отмывки от HCl дистиллированной водой корешки помещали в водный раствор фуксинсернистой кислоты и оставляли на ночь. Окрашенные корешки промывали в трех порциях свежеприготовленной сернистой воды, после чего проводили ферментативную мацерацию в течение 40-60 минут для разрушения межклеточного вещества и клеточной стенки. Полученные препараты помещали в холодильную камеру с температурой $-74 \pm 1^\circ\text{C}$ на 24 часа. Затем освобождали замороженный препарат от покровного стекла и пропускали через батарею спиртов для обезвоживания и получения постоянных цитологических препаратов.

Учет структурных нарушений хромосом проводили с помощью метафазного метода анализа хромосом на микроскопе серии Olympus BX 43F (Olympus, Япония). В каждом варианте опыта просматривали от 400 до 500 метафаз. При анализе структурных нарушений хромосом учитывали не только общее количество нарушений, но и все типы хромосомных и хроматидных перестроек. Во всех случаях негативным контролем служил естественный мутационный процесс, протекающий в клетках корневой зародышевой меристемы семян ячменя, а позитивным контролем – уровень хромосомных aberrаций, индуцированных метилметансульфонатом.

Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований были определены показатели доброкачественности сырья растений рода *Limonium gmelinii* из естественных мест произрастания. Изучаемые виды сырья *L. gmelinii* были заготовлены в соответствии с требованиями к их заготовке, сушке и хранению в соответствии с принятыми стандартами и инструкциями [13]. Проведены их макроскопический и микроскопический анализы, радионуклидный контроль, получены данные по наличию в них тяжелых металлов. Кроме установления степени измельчения сырья, доброкачественность сырья включает в себя также

такие показатели как определение влажности, золы общей, золы, нерастворимой в 10% соляной кислоте, сульфатной золы и экстрактивных или действующих веществ (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели доброкачественности (%) надземной части и корней и корневищ *Limonium gmelinii*

Показатели	<i>L. gmelinii</i>	
	надземная часть	подземная часть
Экстрактивные вещества	31,12	35,7
Влажность	9,22	9,11
Общая зола	15,31	5,72
Зола, нерастворимая в 10% HCl	0,64	0,71
Сульфатная зола	18,32	7,73

Показатель «Общая зола» указывает на количество минеральных веществ, содержащихся как в самом сырье, так и в примесях. Для изучаемых подземной и надземной частей это значение составляет не более 6%, что значительно ниже, чем для фармакопейных образцов (до 14%). Значения показателя «Зола, нерастворимая в 10% HCl», дает возможность отследить количественное содержание примесей в растительном сырье и, в первую очередь, судить о правильности их заготовки (не более 1,5%).

Допустимые значения примесей регламентировано ведущими фармакопеями мира, в том числе и ГФ РК, что в эксперименте было подтверждено и для подземной, и для надземной частей исследуемого вида растений. Количество же сульфатной золы для *L. Gmelinii* значительно и оно, как правило, соизмеримо с содержанием металлов в растениях, образующих нерастворимые сульфаты. К таким металлам относятся кальций, содержание которого, как показал микроэлементный анализ сырья, в них значителен, так как растения рода *L. gmelinii*, как известно, содержат каналцы, удаляющие избыточное количество кальциевых и натриевых солей из почвы.

Все установленные товароведческие показатели характеризуют взятые для исследования подземную и надземную части растений вида кермека Гмелина как достаточно качественное лекарственное сырье, на основе которого возможно получение лекарственных субстанций в виде сухих экстрактов.

С применением ключевых методов анализа были проведены избирательные виды экс-

тракции, хроматографическое разделение комплекса биологически активных веществ, а также установление компонентного качественного и количественного состава основных групп БАВ. Показано, что доминирующими компонентами в исследуемых субстанциях являются полифенольные соединения, представленные в основном дубильными веществами и окисленными формами флавоноидов (из них преобладают мирицетин и его различные гликозиды). Данными кислотного и тиольного гидролиза, щелочным расщеплением, хроматографическим и спектральными методами анализа было показано, что дубильные компоненты представлены конденсированными их видами, а среди окисленных форм флавоноидов преобладают мирицетин и его различные гликозиды. Необходимо отметить, что именно конденсированные дубильные вещества являются самыми эффективными природными антиоксидантами, что очень важно и для исследуемых образцов.

Сравнительный анализ данных о количественном содержании основных групп БАВ в подземной и надземной частях кермека Гмелина свидетельствует о соизмеримости в них дубильных веществ, полисахаридов, флавоноидов, кумаринов, каротиноидов и сапонинов и, следовательно, о целесообразности всестороннего изучения этих растений в целом, что выгодно с экономической точки зрения (таблица 2). Следовательно, можно говорить об использовании как надземной, так и подземной частей исследуемых растений.

Таблица 2 – Количественная оценка БАВ в субстанциях, полученных из корней и надземной части кермека Гмелина

Основные группы БАВ	Содержание БАВ в субстанции, % от сухого сырья	
	подземная часть	надземная часть
Дубильные вещества	26,1	27,01
Полисахариды	6,97	6,98
Флавоноиды	10,02	9,50
Кумарины	0,33	0,30
Каротиноиды	3,12	3,01
Сапонины	2,73	2,68

Доминирующими компонентами в исследуемых растительных субстанциях являются полифенольные соединения, представленные в ос-

новном дубильными веществами и окисленными формами флавоноидов (из них преобладают миритин и его различные гликозиды). Данными кислотного и тиольного гидролиза, щелочным расщеплением, хроматографическим и спектральным методами анализа было показано, что дубильные компоненты представлены конденсированными их видами, а среди окисленных форм флавоноидов преобладают миритин и его различные гликозиды. Необходимо отметить, что именно конденсированные дубильные вещества являются самыми эффективными природными антиоксидантами, что очень важно и для исследуемых образцов.

Фитотоксичность субстанций из подземной и надземной частей растений *L. gmelinii*, содержащих комплекс биологически активных веществ, определялась по всхожести обработанных данными субстанциями семян (таблица 3). Всхожесть семян, обработанных водными растворами ММС в концентрациях 1,0 и 5,0 мг/л, составила

86,73% и 74,33%, соответственно. Сравнительный анализ показал, что всхожесть обработанных раствором мутагена разной концентрации семян снизилась соответственно в 1,08 (статистически не достоверно) и 1,26 ($p < 0.01$) раза по сравнению с контролем. При этом, всхожесть семян, обработанных субстанцией, содержащей БАВ как из подземной, так и надземной частей кермека, в концентрациях 25,0; 50,0 и 100,0 мг/л, была на уровне контроля (пророщенные на дистиллированной воде). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии токсических эффектов у субстанций из кермека Гмелина в тесте на всхожесть семян.

Нами также изучалась мутагенная активность изучаемых субстанций в тесте по учету хромосомных aberrаций. Результаты цитогенетического исследования мутагенных эффектов ММС и БАВ в клетках корневой зародышевой меристемы семян ячменя представлены в таблице 4.

Таблица 3 – Всхожесть семян ячменя, отдельно обработанных водными растворами биологически активных веществ из растений *L. gmelinii* и метилметансульфонатом

Вариант	Всхожесть семян		
	25,0 мг/л	50,0 мг/л	100,0 мг/л
БАВ <i>Limonium gmelinii</i> (подземная часть)	95,67±2,88	94,33±3,27	97,66±2,14
БАВ <i>Limonium gmelinii</i> (надземная часть)	96,33±2,66	95,67±2,88	98,33±1,81*
Контроль (вода)	93,67±3,44		
ММС, 1,0 мг/л	86,73±5,87		
ММС, 5,0 мг/л	74,33±6,18*		

Примечание – * – $p < 0,001$ в сравнении с ММС, * – $p < 0.01$ в сравнении с контролем

Таблица 4 – Частота и спектр структурных нарушений хромосом, индуцированных экстрактами из подземной и надземной частей *L. gmelinii* в семенах ячменя

Вариант опыта	Всего изучено клеток	Частота aberrантных клеток ($M \pm m\%$)	Число хромосомных aberrаций на 100 метафазных клеток		
			всего aberrаций	хромосомного типа	хроматидного типа
Вода	470	1,49 ± 0,56	1,49 ± 0,56	0,85 ± 0,42	0,64 ± 0,37
ММС, 5 мг/л	518	6,18 ± 1,06*	7,92 ± 1,19**	4,83 ± 0,94**	3,09 ± 0,76*
<i>L. gmelinii</i> , субстанция из подземной части					
25,0 мг/л	482	1,24 ± 0,50	1,24 ± 0,50±	0,83 ± 0,41	0,41 ± 0,29
50,0 мг/л	513	1,17 ± 0,47	1,17 ± 0,47	0,78 ± 0,39	0,39 ± 0,28
100 мг/л	452	1,33 ± 0,54	1,33 ± 0,54	0,66 ± 0,38	0,66 ± 0,38

Вариант опыта	Всего изучено клеток	Частота aberrантных клеток ($M \pm m\%$)	Число хромосомных aberrаций на 100 метафазных клеток		
			всего aberrаций	хромосомного типа	хроматидного типа
<i>L. gmelinii</i> , субстанция из надземной части					
25,0 мг/л	567	$1,23 \pm 0,46$	$1,23 \pm 0,46$	$0,88 \pm 0,39$	$0,35 \pm 0,25$
50,0 мг/л	526	$1,33 \pm 0,50$	$1,33 \pm 0,50$	$0,76 \pm 0,38$	$0,57 \pm 0,33$
100 мг/л	573	$1,01 \pm 0,41$	$1,01 \pm 0,41$	$1,33 \pm 0,50$	$1,33 \pm 0,50$
Примечание – * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$ в сравнении с контрольными значениями					

Согласно представленным результатам и сравнительному анализу частоты aberrантных клеток и числа хромосомных aberrаций на 100 метафаз в корневой меристеме семян ячменя, отдельно обработанных дистиллированной водой и растворами БАВ в различных концентрациях, экстракты кермека из подземной и надземной частей растений не проявили мутагенной активности. Уровень структурных нарушений хромосом во всех вариантах опыта с БАВ достоверно не отличался от негативно-контроля (дистиллированная вода). В то же время, ММС с высокой частотой индуцировал широкий спектр структурных перестроек хромосом.

Спектр хромосомных aberrаций у ячменя, обработанного водой и растворами БАВ, был представлен перестройками хромосомного и хроматидного типов, в числе которых парные

и одиночные концевые делеции, точковые фрагменты.

В вариантах, где семена обрабатывали метилметансульфонатом, спектр также был представлен нарушениями как хромосомного, так и хроматидного типов. Однако частота структурных мутаций, как уже отмечалось выше, была в несколько раз выше, чем в вариантах с водой и БАВ.

Нарушения хромосомного типа были представлены в основном парными фрагментами (концевые делеции) и парными точечными фрагментами. Встречались также единичные центрические кольца, дицентрики и хромосомные конфигурации, возникающие в результате симметричных хромосомных транслокаций. Кроме того, необходимо отметить, что под воздействием ММС в одной клетке поражались две и более хромосом.



Рисунок 2 – Структурные мутации у ячменя, индуцированные метилметансульфонатом ($2n=14$), $\times 400$

Наряду с абберрантными метафазами также наблюдались многочисленные анафазные клетки с отставанием хромосом, мостами и фрагментами. Наиболее часто встречающиеся типы хромосомных aberrаций, индуцируемые мутагеном, представлены на рисунке 2.

Таким образом, проведенные исследования показали, что обработка семян ячменя водными растворами субстанций, выделенных из корней и корневищ, а также из надземной части *Limonium gmelinii*, при использованных концентрациях не подавляла всхожести семян. Метилметансульфонат в концентрации 5 мг/л существенно снизил всхожесть семян по сравнению с контролем ($p < 0.01$). В тесте по учету хромосомных aberrаций (метафазный метод) была изучена частота и спектр структурных мутаций в корневой зародышевой меристеме семян ячменя, обработанных растительными экстрактами. Установлено, что частота структурных нарушений хромосом была на уровне контроля, что свидетельствует об отсутствии мутагенной активности у изучаемых комплексов БАВ в использованных концентрациях.

Известно, что повреждения ДНК играют не последнюю роль в запуске и развитии различных патологических процессов. Наиболее значимыми являются сбои, возникающие в результате окисления оснований ДНК активными формами кислорода (АФК). АФК могут образоваться как в ходе нормального метаболизма, так и в результате действия многих мутагенов окружающей среды. При этом, необходимо отметить, что АФК при минимальных концентрациях участвуют в регуляции молекулярно-биохимических реакций и физиологических функций организма. Однако при высоких концентрациях в организме эти формы кислорода вызывают окислительный стресс, ускоряющий процесс старения клетки и целого организма, вызывают злокачественную трансформацию клеток, нейродегенерацию, атеросклероз, аутоиммунные и многие другие хро-

нические заболевания, а также увеличить частоту хромосомных aberrаций [17, 18].

Насыщение биосферы различными экологически опасными факторами, в числе которых тяжелые металлы, пестициды, различные красители, углеводороды и др., многие из которых обладают токсическим, мутагенным, тератогенным, канцерогенным действием, способствует не только накоплению мутационного груза, но и формированию геномной нестабильности. Возможные последствия воздействия различных загрязнителей на геном организма, как уже отмечалось выше, – рост частоты наследственных, онкологических и других заболеваний человека, а также утрата генофонда и уменьшение биологического разнообразия. Учитывая вклад повреждений ДНК в патологические процессы, необходима разработка мер генетической безопасности, к числу которых относится изучение и дальнейшее применение антимуагенов, способных снижать уровень спонтанных и индуцированных мутаций [17]. Многие антимуагены-антиоксиданты полифункциональны и влияют на различные этапы и пути становления мутационных событий. Они выступают в роли ловушек свободных радикалов, подавляют систему метаболической активации ксенобиотиков, активируют систему детоксикации мутагенов, активируют процессы репарации поврежденной ДНК и запускают апоптоз для клеток, «перегруженных» мутациями и хромосомными перестройками [17].

В связи с вышеизложенным нам представляется целесообразным изучить антимуагенный потенциал субстанций, выделенных из корней и корневищ и надземной части растений *Limonium gmelinii*, содержащих комплекс биологически активных веществ.

Работа выполнена в рамках проекта МОН РК 0587/ГФ4, ГР № 0115РК00378. Руководитель – Колумбаева С.Ж.

Литература

- 1 Курляндский БА, Филова ВА (2002) Общая токсикология. Медицина, Москва, Россия. ISBN: 5-225-04609-6.
- 2 Natarajan AT, Obe G, Hayashi M, Ikushima T (2002) Chromosomal aberrations: perspectives for the 21st Century, Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 504 (1-2): 1-2. DOI: 10.1016/S0027-5107(02)00074-X.
- 3 González M., Soloneski S., Reigosa M.A., Larramendy M.L (2003) Effect of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro. IV. DNA damage and repair kinetics assessed by single cell gel electrophoresis (SCGE) assay on Chinese hamster ovary (CHO) cells, Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 534 (1-2): 145-154. DOI: 10.1016/S1383-5718(02)00257-7.
- 4 Xia X (2008) The cost of wobble translation in fungal mitochondrial genomes: integration of two traditional hypotheses, BMC Evolutionary Biology, 8: 211. DOI: 10.1186/1471-2148-8-211.

- 5 Васильева ИМ, Шагирова ЖМ, Синельщикова ТА, Мавлетова ДА, Кузьмина НС, Засухина ГД (2009) Защита радиочувствительных клеток человека от воздействия тяжелых металлов антимуtagens и адаптирующими факторами. Связь с генетическим и белковым полиморфизмом, Генетика, 45 (6): 753-757. DOI: 10.1134/S1022795409060040.
- 6 Гончарова РИ, Кузир ТД (2005) Молекулярные основы применения антимуtagens в качестве антиканцерогенов, Экологическая генетика, 3 (3): 19-32.
- 7 Uzun F, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y (2007) Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E, Food and Chemical Toxicology, 47 (8): 1903-1908. DOI: 10.1016/j.fct.2009.05.001.
- 8 Liu W, Di Giorgio C, Lamidi M, Elias R, Ollivier E, De Meo MP (2011) Genotoxic and clastogenic activity of saponins extracted from *Nauclea* bark as assessed by the micronucleus and the comet assays in Chinese Hamster Ovary cells, Journal of Ethnopharmacology, 137: 176 – 183. DOI: 10.1016/j.jep.2011.05.005.
- 9 Edziri H, Mastouri M, Mahjoub A, Anthonissen R, Mertens B, Cammaerts S, Gevaert L, Verschaeve L (2011) Toxic and mutagenic properties of extracts from Tunisian traditional medicinal plants investigated by the neutral red uptake, VITOTOX and alkaline comet assays, South African Journal of Botany, 77: 703–710. DOI: 10.1016/j.sajb.2011.03.007.
- 10 Kalantari H, Galehdari H, Zaree Z, Gesztelyi R, Varga B, Haines D, Bombicz M, Tosaki A, Juhasz B (2013) Toxicological and mutagenic analysis of *Artemisia dracunculoides* (tarragon) extract, Food and Chemical Toxicology, 51: 26–32. DOI: 10.1016/j.fct.2012.07.052.
- 11 Timothy O, Idu M, Olorunfemi DI, Ovuakporie-Uvo O (2014) Cytotoxic and genotoxic properties of leaf extract of *Icacina trichantha* Oliv., South African Journal of Botany, 91: 71–74. DOI: 10.1016/j.sajb.2013.11.008.
- 12 Гераськин СА, Сарапульцева ЕА (2010) Биологический контроль окружающей среды. Генетический мониторинг. Академия, Москва, Россия. ISBN: 978-5-7695-6536-6.
- 13 ГОСТ 24027.2-80 Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла, Лекарственное растительное сырье. Часть 2. Корни, плоды, сырье. Москва, Россия, 1999.
- 14 Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т 1. Жибек жолы, Алматы, Казахстан, 2008.
- 15 Худoley ВВ (1999) Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия. НИИ Химии СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия. ISBN: 5-7997-0170-4.
- 16 Немцева ЛС (1970) Метафазный метод учета перестроек хромосом. Наука, Москва, Россия.
- 17 Гончарова Р, Кузир Т, Рябоконь Н (2010) Антимуtagens на благо здоровья, Наука и инновации, 4: 25-30.
- 18 Chen K-H, Wang, K-J, Wang K-M, Adrian AM (2014) Applying Particle Swarm Optimization-Based Decision Tree Classifier for Cancer Classification on Gene Expression Data, Applied Soft Computing, 24: 773-780. DOI: 10.1016/j.asoc.2014.08.032.

References

- 1 Kurlandskii BA, Filova VA (2002) General Toxicology [Obshchaya toksikologiya]. Meditsina, Moscow, Russia. ISBN: 5-225-04609-6. (In Russian).
- 2 Natarajan AT, Obe G, Hayashi M, Ikushima T (2002) Chromosomal aberrations: perspectives for the 21st Century, Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 504 (1-2): 1-2. DOI: 10.1016/S0027-5107(02)00074-X.
- 3 González M., Soloneski S., Reigosa M.A., Larramendy M.L (2003) Effect of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro. IV. DNA damage and repair kinetics assessed by single cell gel electrophoresis (SCGE) assay on Chinese hamster ovary (CHO) cells, Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 534 (1-2): 145-154. DOI: 10.1016/S1383-5718(02)00257-7.
- 4 Xia X (2008) The cost of wobble translation in fungal mitochondrial genomes: integration of two traditional hypotheses, BMC Evolutionary Biology, 8: 211. DOI: 10.1186/1471-2148-8-211.
- 5 Vasilyeva IM, Shagirowa ZhM, Sinelshikova TA, Mavletova DA, Kuzmina NS, Zasukhina GD (2009) Protection of radio-sensitive human cells against the action of heavy metals by antimutagens and adapting factors: Association with genetic and protein polymorphisms, Russian Journal of Genetics, 45 (6): 659-662. DOI: 10.1134/S1022795409060040.
- 6 Goncharova RI, Kuzhir TD (2005) Molecular basis of applying antimutagens as anticarcinogens [Molekuliarnye osnovy primeneniia antimutagenov v kachestve antikantserogenov], Ekologicheskaya genetika, 3 (3): 19-32. (In Russian)
- 7 Uzun F, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y (2007) Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E, Food and Chemical Toxicology, 47 (8): 1903-1908. DOI: 10.1016/j.fct.2009.05.001.
- 8 Liu W, Di Giorgio C, Lamidi M, Elias R, Ollivier E, De Meo MP (2011) Genotoxic and clastogenic activity of saponins extracted from *Nauclea* bark as assessed by the micronucleus and the comet assays in Chinese Hamster Ovary cells, Journal of Ethnopharmacology, 137: 176 – 183. DOI: 10.1016/j.jep.2011.05.005.
- 9 Edziri H, Mastouri M, Mahjoub A, Anthonissen R, Mertens B, Cammaerts S, Gevaert L, Verschaeve L (2011) Toxic and mutagenic properties of extracts from Tunisian traditional medicinal plants investigated by the neutral red uptake, VITOTOX and alkaline comet assays, South African Journal of Botany, 77: 703–710. DOI: 10.1016/j.sajb.2011.03.007.
- 10 Kalantari H, Galehdari H, Zaree Z, Gesztelyi R, Varga B, Haines D, Bombicz M, Tosaki A, Juhasz B (2013) Toxicological and mutagenic analysis of *Artemisia dracunculoides* (tarragon) extract, Food and Chemical Toxicology, 51: 26–32. DOI: 10.1016/j.fct.2012.07.052.
- 11 Timothy O, Idu M, Olorunfemi DI, Ovuakporie-Uvo O (2014) Cytotoxic and genotoxic properties of leaf extract of *Icacina trichantha* Oliv., South African Journal of Botany, 91: 71–74. DOI: 10.1016/j.sajb.2013.11.008.

- 12 Geras'kin SA, Sarapul'tseva EA (2010) Biological control of environment. Genetic monitoring [Biologicheskii kontrol' okruzhaiushchei sredy. Geneticheskii monitoring]. Akademiia, Moscow, Russia. ISBN: 978-5-7695-6536-6. (In Russian).
- 13 GOST 24027.2-80 Medicinal plant raw. Methods for determination of moisture, ash, extractives and tannins, essential oil, medicinal plant raw materials. Part 2: The roots, fruits, raw. [GOST 24027.2-80 Syr'e lekarstvennoe rastitel'noe. Metody opredeleniia vlazhnosti, sodержaniia zoly, ekstraktivnykh i dubil'nykh veshchestv, efirmogo masla, Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. Chast' 2. Korn'i, plody, syr'e]. Moscow, Russia, 1999. (In Russian).
- 14 State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan. V. 1 [Gosudarstvennaia farmakopeia Respubliki Kazakhstan. T 1]. Zhibek zholy, Almaty, Kazakhstan, 2008. (In Russian).
- 15 Khudolei VV (1999) Carcinogens: Characteristics, patterns, mechanisms of action [Kantserogeny: kharakteristiki, zakonomernosti, mekhanizmy deistviia]. NII Khimii SPbGU, St. Petersburg, Russia. ISBN: 5-7997-0170-4. (In Russian).
- 16 Nemtseva LS (1970) Metaphase method of accounting for chromosome rearrangements [Metafaznyi metod ucheta perestroek khromosom]. Nauka, Moscow, Russia. (In Russian).
- 17 Goncharova R, Kuzhir T, Riabokon' N (2010) Antimutagens for health [Antimutageny na blago zdorov'ia], Nauka i innovatsii, 4: 25-30. (In Russian).
- 18 Chen K-H, Wang, K-J, Wang K-M, Adrian AM (2014) Applying Particle Swarm Optimization-Based Decision Tree Classifier for Cancer Classification on Gene Expression Data, Applied Soft Computing, 24: 773-780. DOI: 10.1016/j.asoc.2014.08.032.