

BİOLOGİYA

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
САПОНИНОВ ИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

P.A.AĞABEYLİ*, P.A.KULİYEV**, A.I.KERİMOVA**

* *Институт ботаники НАН Азербайджана*** *Бакинский Государственный Университет*

*Проведена сравнительная оценка генетической активности сапонинов, выделенных из корней *Gypsophila paniculata* L. и из листьев *Yucca gloriosa* L. в клетках *Allium sera* L. Установлена антимутагенная активность сапонинов из листьев *Yucca gloriosa* L., способность подавлять спонтанное мутирование. Выявлена мутагенная активность сапонинов из корней *Gypsophila paniculata* L. в клетках *Allium sera* L., имеющая концентрационно зависимый характер.*

Введение. Исследования, направленные на выявление биологически активных веществ из растительных источников, обладающих генозащитными свойствами, представляют значительный интерес. С одной стороны, они позволяют оценить роль различных метаболитов в регуляции генетической устойчивости растений, с другой - выявить перспективные виды растений, относящиеся к различным жизненным формам и являющимися ценными источниками получения фармакологических средств и пищевых добавок с генозащитными, антиоксидантными и геропротекторными свойствами [1]. Сапонины относятся к широко распространённым у растений полифенольным соединениям и гликозидам, выяснению роли которых в биологических и, в том числе генетических процессах посвящено большое количество исследований. Первые результаты генетических эффектов этих исследований выявили мутагенную активность для ряда фенольных соединений на клеточном уровне. Однако, позже была установлена антимутагенная активность для целого ряда фенольных соединений (натрийгаллата, пропилгаллата, производных галловой кислоты, инола и многих др.) и их способность подавлять спонтанное мутирование организмов. Также, для фенольных соединений была показана противоопухолевая, противолучевая и антимутагенная активность [2-9]. В на-

стоящее время накоплена значительная информация о перспективности использования природных антимутогенов, в том числе природных фенольных соединений как пищевых добавок и фармакологических средств в геронтологии, профилактике и терапии осложнений, связанных с производственной и бытовой интоксикацией и имеющих своё проявление на генетическом уровне [3-9]. Данные о роли антимутогенов в антиканцерогенезе свидетельствуют о перспективах практического применения многих антимутогенов, имеющих природное происхождение и действующих с помощью множественных и разных, не исключаящих друг друга, механизмов на внеклеточном и внутриклеточном уровне. Выявление новых антимутогенов, изучение механизма их действия, практических путей применения является одной из актуальных задач. Представлял интерес изучить генетические эффекты суммы сапонинов выделенных из лекарственных растений с высоким их содержанием - корней Качима метельчатого с содержанием тритерпеновых сапонинов, до 29%, листьев Юкки славной, содержащей стероидные сапонины (до 2%), производных тигогенина и проведение сравнительной оценки эффективности их генозащитного действия.

Материал и методы исследования. Анализ генетической активности суммы сапонинов (СС1), выделенных из корней Качима метельчатого (гипсофила) (*Gypsophila paniculata L.*) и листьев Юкки славной (СС2) (*Yucca gloriosa L.*) методом экстрагирования [10], проводили в клетках меристемы проростков Лука репчатого (*Allium cepa L.*). Семена проращивали в термостате при $t=25^{\circ}\text{C}$, в растворах сапонинов в диапазоне концентраций 0,001-100 мкг/мл при $\text{pH}=5,4$. Контрольный вариант проращивали на дистиллированной воде. Проростки лука репчатого длиной 5-7мм фиксировали смесью абсолютного этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1) через 65 часов от начала замачивания семян. Готовили давленные временные ацетокарминовые препараты, на которых проводили анализ аббераций хромосом в анафазе митоза клеток меристемы первичных корешков (до 1000 и более клеток на вариант), анализ спектра структурных мутаций хромосом, анализ митотической активности клеток (на основе анализа 3000 клеток в 15 корешках, по 200 клеток в каждом корешке) по стандартной методике [11]. Полученные данные статистически обработаны [12].

Результаты и обсуждение. Одним из основных свойств и требований, предъявляемых к генозащитным препаратам, является их антимутогенная активность при модификации спонтанной мутабельности [3]. В связи с указанным, для выявления генетической активности исследуемых препаратов, первоначально была поставлена серия экспериментов по изучению их действия в различных концентрациях. В таблице 1 представлены результаты серии экспериментов при проращивании семян лука репчатого в растворах сапонинов –СС1 и СС2 в диапазоне концентраций 0,001-100мкг/мл. Результаты цитогенетического анализа влияния исследуемых

препаратов на частоту спонтанной мутабельности хромосом меристемы корешков лука репчатого показали, что в отдельных вариантах эксперимента сумма сапонинов СС1 приводила к проявлению мутагенного действия. Как видно из таблицы 1 препарат СС1 с увеличением концентрации приводит к статистически достоверному увеличению частоты aberrаций хромосом по отношению к контролю. Установлен концентрационно зависимый характер генетической активности СС1. Так, при действии в концентрации 100мкг/мл сумма сапонинов СС1 приводит к увеличению относительного количества aberrаций хромосом с $3,12 \pm 0,62\%$ в контроле до $5,9 \pm 0,8\%$ в опыте, соответственно $t_d = 2,7$. Достоверное увеличение мутабельности регистрировали как при действии низких концентраций этого препарата - 0,01-0,001мкг/мл, так и при действии высоких концентраций – 10 и 100мкг/мл. Исключение составили концентрации препарата 0,1 и 1мкг/мл, при действии которых относительного увеличения частоты aberrаций хромосом не было зафиксировано.

Таблица 1

Влияние сапонинов из корней *Gypsophila paniculata L.* (СС1) и листьев *Yucca gloriosa* (СС2) на частоту спонтанной мутабельности хромосом в клетках меристемы корешков *Allium cepa L.*

Вариант опыта	Концентрация, мкг/мл	Изучено клеток	Аберрации хромосом, %		t_d (опыт-контроль)	ФЭА*
			N	M±m		
О(контроль)	-	768	24	$3,12 \pm 0,62$	-	-
СС1	0,001	837	56	$6,69 \pm 0,3$	3,3	-
	0,01	944	49	$5,19 \pm 0,72$	2,1	-
	0,1	1086	33	$3,03 \pm 0,52$	-	-
	1	906	32	$3,53 \pm 0,61$	-	-
	10	1180	54	$4,57 \pm 0,60$	-	-
	100	863	51	$5,9 \pm 0,8$	2,7	-
СС2	0,001	914	22	$2,40 \pm 0,50$	-	-
	0,01	1006	12	$1,19 \pm 0,34$	2,7	0,61
	0,1	1255	14	$1,11 \pm 0,29$	2,9	0,64
	1	1021	18	$1,76 \pm 0,41$	1,8	0,43
	10	1212	37	$3,04 \pm 0,49$	-	-
	100	1001	32	$3,19 \pm 0,55$	-	-

*ФЭА – фактор эффективности антимутагена

Полученные данные свидетельствуют о способности суммы сапонинов полученных из корней *Gypsophila paniculata L* проявлять мутагенную активность в клетках *Allium cepa L*. В ранних исследованиях по изучению эффектов антимутагенов на эукариотах было установлено, что ряд ингибиторов мутагенеза проявляют эти свойства, как правило, в низких концентрациях, а в высоких дозах мутагенные и цитотоксические свойства. Такая смена эффектов описана для ряда антимутагенов фенольной природы, неорганических соединений селена [13, 3].

Анализ генетической активности сапонинов из листьев *Yucca gloriosa L.* -СС2 показал, что в отличие от СС1, проращивание семян в его растворах не приводит к увеличению частоты спонтанной мутабельности хромосом в меристематических клетках *Allium cepa L.* Из результатов таблицы 1 видно, что сумма сапонинов из листьев *Yucca gloriosa L.* при действии в диапазоне низких концентраций (0,1-0,01мкг/мл) приводит к снижению мутабельности хромосом с $3,12 \pm 0,62\%$ в контроле до $1,19 \pm 0,34\%$; $1,11 \pm 0,29\%$ и $1,76 \pm 0,41\%$, в опыте с высокой статистической достоверностью и, соответственно, эффективность антимутагенного действия этого препарата составила 61%; 64%; и 43%. В тоже время, как показали результаты цитогенетического анализа, увеличение концентрации СС2 с 0,1мкг/мл до 100мкг/мл не приводит к проявлению мутагенного действия этого препарата. Наблюдаемая тенденция к незначительному увеличению относительной частоты aberrаций хромосом в указанных вариантах эксперимента статистически не достоверна.

Анализ спектра структурных мутаций хромосом в вариантах эксперимента показал, что увеличение концентрации СС2 до 100 мкг/мл не приводит к увеличению относительного количества aberrаций хромосом определённых категорий по отношению к контролю, что также свидетельствует о физиологичности этого препарата. Снижение относительного количества aberrаций хромосом наблюдали на фоне равномерного снижения всех категорий структурных перестроек хромосом, что является характерным для действия антимутагенов и указывает на то, что антимутагенное действие осуществляется ещё до возникновения разрывов хромосом, путём предотвращения процессов, ведущих к их разрыву.

Результаты анализа митотической активности клеток *Allium cepa L.* при действии СС1 и СС2 представлены на рис. 1, из которого видно, что оба препарата не проявили цитотоксических эффектов и не приводили к проявлению митодепрессивного действия. Действие СС1 привело к проявлению статистически достоверного стимулирования общего митотического индекса при действии препарата в диапазоне действия концентраций 1-0,001мкг/мл и, соответственно, $t_d = 3; 4,8; 2,3; 2,3$. Действие высоких концентраций обоих препаратов не привело к изменению митотического индекса в меристематических клетках *Allium cepa L.* по отношению к контролю (рис.1).

Таким образом, результаты проведенного исследования впервые выявили антимутагенную активность суммы сапонинов, выделенных из листьев Юкки славной (*Yucca gloriosa L.*), способность этого препарата снижать частоту спонтанной мутабельности в клетках *Allium cepa L.* Выявлена мутагенная активность суммы сапонинов из корней *Gypsophila paniculata L.* в клетках *Allium cepa L.*, имеющая концентрационно зависимый характер.

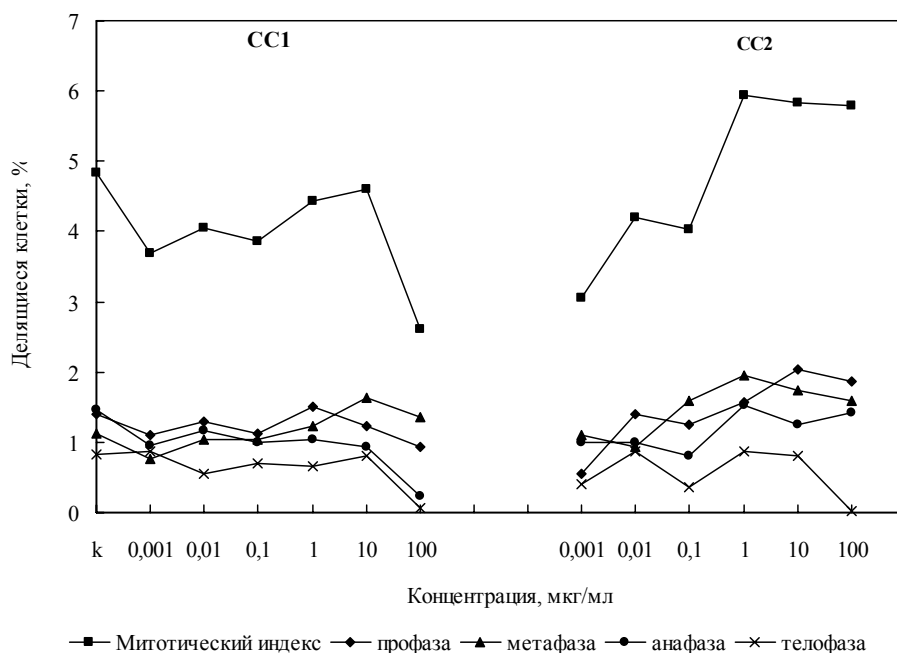


Рис. 1. Влияние суммы сапонинов полученных из корней *Gypsophila paniculata L.* (CC1) и листьев *Yucca gloriosa* (CC2) в различных концентрациях, на митотическую активность клеток меристемы корешков *Allium cepa L.*

Выводы:

1. Впервые установлена антимуtagenная активность суммы сапонинов из листьев *Yucca gloriosa L.*, способная подавлять спонтанный мутационный процесс в клетках *Allium cepa L.*
2. Выявлен новый источник (листья *Yucca gloriosa L.*) получения фенольных соединений (сапонинов), обладающих антимуtagenной активностью.
3. Установлена мутагенная активность суммы сапонинов из корней *Gypsophila paniculata L.* в клетках *Allium cepa L.*, имеющая концентрационно зависимый характер.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабейли Р.А. Растительные биоконплексы в предотвращении мутационной изменчивости организмов в процессе старения и воздействия генотоксикантов среды. – Biodiversity Protection Proceedings of the Azerbaijan National MAB Committee, vol. 2., UNESCO MAB, Baku- 2003 p.56-71.
2. Винклер Г.Н., Щербаков В.К.. Антимуtagenная и противолучевая активность естественного полифенольного комплекса. – «Цитология и генетика» 1967, т.1№5 с.5-9.

3. Алекперов У.К. Антимутагенез. Теоретические и практические аспекты. – М.: Наука, 1984, 100с.
4. Nagabhusan M., Nair U. J., Amonkar A. J., D' Souse A.V., Bhide S.V. Curcumins as inhibitors of nitrosation in vitro. – *Mutat. Res.* 1988 vol. 202.N1, p.163-169.
5. Nagabhushan M. Catechin as an mutagen and anticarcinogen. – *Environ. And Mol Mutagens.* 1989. Vol.14. Suppl. P.138.
6. Агабейли Р.А. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты в регуляции мутационного процесса. // Баку, Элм, 1989, 111 С.
7. Agabeyli R.A., Tagizade I.K. The influence of individual natural compounds and extracts of plants on the genetic damages induced by antibiotics and environmental factors. – *ISSX Proceedings*, 1994, Volume 6, Carolina, p. 285.
8. *Weisburger J.H.* Lifestyle, health and disease prevention: the underlying mechanisms. – *European Journal of Cancer Prevention* 2002, Volume 11, (Suppl 2), S1-S7.
9. Lindsay D.G. Diet and ageing. – *J. Nutr. Health, Agl.*, 1999, 84-91.
10. Максютин М.П. Растительные лекарственные средства.- Киев, Изд. «Здоровье»,1985. с. 82-85.
11. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М. Колос. 1980. с. 1-304.
12. Лакин Г.Ф.- Биометрия. М., Высшая школа, 1990, 350 С.
13. Гончарова Р.И. Антимутагенез. – Минск, 1974, с. 1-144.

**DƏRMAN BİTKİLƏRİNDƏN ALINMIŞ SAPONİNLƏRİN
GENETİK AKTİVLİYİNİN MÜQAYİSƏLİ ŞƏKİLDƏ ÖYRƏNİLMƏSİ**

R.A.AQABƏYLİ, R.A.QULİYEV, A.İ.KƏRİMOVA

XÜLASƏ

Gypsophila paniculata L. köklərindən və *Yucca gloriosa L.* yarpaqlarından alınmış saponinlər *Allium cepa L.* hüceyrələrin genetik aktivliyi müqayisəli şəkildə öyrənilmişdir. Tədqiqat nəticəsində müəyyənləşdirilmişdir ki, *Yucca gloriosa L.* yarpaqlarından alınmış saponinlər spontan mutasiya tezliyini aşağı salır. Həmçinin *Gypsophila paniculata L.* köklərindən alınmış saponinlər *Allium cepa L.* hüceyrələrində qatılıqdan asılı olaraq mutagen aktivlik göstərmişdir.

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE GENETICALLY ACTIVITY
OF THE SAPONINS ISOLATED FROM MEDICAL PLANTS**

R.A.AGABEYLI, R.A.GULIYEV, A.I.KERIMOVA

SUMMARY

The comparative assessment of the genetically activity of the saponins isolated from roots of *Gypsophila paniculata L.* and leaves of *Yucca gloriosa L.* have been studied on *Allium cepa L.* cells. The antimutagen activity of the saponins from leaves *Yucca gloriosa L.* on spontaneous mutation was determinate. The saponins from leaves of *Yucca gloriosa L.* demonstrated doze dependent mutagenic activity.