

УДК 575.224.46.044

МУТАГЕННОСТЬ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ ПРИРОДНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

© 2009 Е.С. Селезнева,¹ З.П. Белоусова,² И.А. Медведева³

Исследовали мутагенность $1-\beta-D$ -эритрофуранозилбензимидазолида, $1-\beta-D$ -эритрофуранозилбензотриазолида, $1-\beta-D$ -рибофуранозилбензимидазолида и $1-\beta-D$ -рибофуранозилбензотриазолида для имаго *Drosophila melanogaster* в нетоксичной дозе и в дозе LD50.

Обнаружили, что число индуцированных рецессивных леталей не зависит от дозы, а число доминантных леталей зависит — в дозе LD50 число доминантных леталей было достоверно больше. Исследованные соединения индуцировали больше доминантных леталей у самок, чем у самцов.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, доминантные и рецессивные летальные мутации, структурные аналоги нуклеозидов.

Введение

Известно, что воздействие на самые различные организмы аналогами и гомологами природных нуклеозидов приводит к мутагенному и тератогенному ответу [1, 3, 5]. Несмотря на то что исследования в этой области ведутся давно, до сих пор остается не выясненным, какова роль конформации нуклеозидов в развитии мутагенного ответа.

Ранее нами было показано, что некоторые синтетические нуклеозиды, являющиеся промежуточными продуктами синтеза модифицированных нуклеотидов, индуцируют доминантные и рецессивные летальные мутации у *Drosophila melanogaster*. Все исследованные соединения использовали в полuletальной дозе. Однако для того чтобы выяснить мутагенность в "чистом"

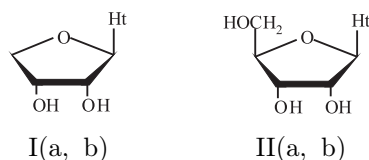
¹Селезнева Екатерина Сергеевна (catana@yandex.ru), кафедра зоологии, генетики и общей экологии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

²Белоусова Зоя Петровна кафедра органической, биорганической и медицинской химии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

³Медведева Ирина Александровна "Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области", ЦЕФ ФГУЗ.

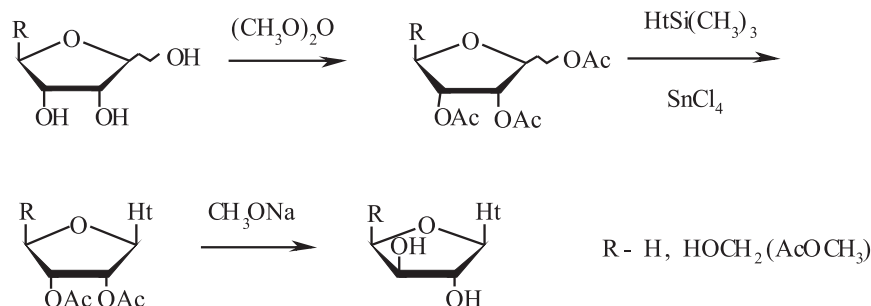
виде, не маскируемую высокой токсичностью исследованных соединений, необходим анализ мутагенности соединений в нетоксичной дозе.

Целью данного исследования явился анализ мутагенности структурных аналогов природных нуклеозидов.



Здесь Ht – бензимидазолил (а), бензотриазолил (б).

Соединения I,II (а, б) синтезировали с использованием методики, описанной в [6], по следующей схеме:



Чистоту полученных соединений подтверждали с помощью тонкослойной хроматографии, структуру — по их ИК спектрам.

Использовали две дозы: LD50 и нетоксичную дозу. Концентрация растворов, вызывающих 50 % гибель имаго для IIа и IIб, составила 1/4 от насыщенного водного раствора, для Ia и Ib — 1/2 от насыщенного раствора. Растворы насыщались при температуре +28 °С. Нетоксичная доза представляла собой водный раствор в концентрации 0,001 мг/мл.

Мутагенность соединений оценивали по способности индуцировать рецессивные летальные мутации в X-хромосомах самцов (метод Меллера-5) [1] и доминантные летальные мутации по методу Белоконь [2].

Достоверность различий между соединениями и действующими дозами оценивали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа, на его основе определяли и достоверность различий в чувствительности особей разных полов к мутагенному действию соединений [4].

Результаты и их обсуждение

Анализ способности соединений индуцировать рецессивные летальные мутации у самцов имаго дрозофилы показал, что число индуцированных

рецессивных леталей не меняется в зависимости от дозы (табл. 1). Однако полный двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверные различия в мутагенности исследуемых соединений ($p < 0,005$).

Таблица 1

Способность соединений индуцировать рецессивные летальные мутации (РЛМ) у имаго *Drosophila melanogaster*

Соединение	Доза LD50		Нетоксичная доза	
	Число проанализированных хромосом	РЛМ, %	Число проанализированных хромосом	РЛМ, %
Контроль	549	0,11	549	0,11
Пб	495	3,1	489	3,03
Иб	511	2,9	491	2,85
Па	479	3,2	506	3,1
Иа	503	2,87	499	2,85

Нуклеозиды, содержащие рибозу, индуцируют больше рецессивных леталей, чем соединения, содержащие эритрозу, а нуклеозиды, содержащие бензотриазол, более мутагенны, чем содержащие бензимидазол.

Результаты анализа способности соединений индуцировать доминантные летальные мутации суммированы в табл. 2.

Таблица 2

Способность соединений индуцировать доминантные летальные мутации (ДЛМ) у имаго *Drosophila melanogaster*

Соединение	Доза LD50		Нетоксичная доза	
	ДЛМ у самок, %	ДЛМ у самцов, %	ДЛМ у самок, %	ДЛМ у самцов, %
Пб	10,5	9,8	6,44	5,59
Иб	9,58	9,01	4,48	4,28
Па	9,2	8,75	4,98	4,77
Иа	9,41	8,82	3,99	3,44

Проведенный полный двухфакторный дисперсионный анализ показал, что соединения достоверно различаются по способности индуцировать доминантные летальные мутации как в дозе LD50 ($p < 0,001$), так и в нетоксичной дозе ($p < 0,005$). У самок синтезированные нами соединения индуцировали доминантных леталей больше, чем у самцов ($p < 0,05$) в обеих проанализированных дозах. Как и в случае с рецессивными летальными, со-

единения, содержащие рибозу, индуцируют больше доминантных леталей, чем соединения, содержащие эритрозу, а содержащие бензотриазол — больше, чем содержащие бензимидазол. В нетоксичной дозе соединения индуцировали достоверно больше доминантных летальных мутаций, чем в дозе LD50 ($p < 0,001$). Таким образом, тест на выявление доминантных леталей показал "дозозависимость" для исследованных веществ.

Полученные результаты позволяют сделать предположение, что синтезированные нами структурные аналоги природных нуклеозидов более эффективно воздействуют на делящиеся клетки, о чем свидетельствует достоверно большее число мутаций индуцируемых у самок по сравнению с самцами.

Отсутствие зависимости числа рецессивных леталей от дозы действующих соединений можно объяснить тем, что величина биологического ответа определяется числом незанятых мембранных рецепторов, обеспечивающих попадание аналогов пуринов внутрь клеток мишеней, такого рода рецепторы описаны для многих тканей [7, 8]. Так как мы имеем дело со структурными аналогами природных нуклеозидов, то образующийся комплекс с рецептором, по-видимому, слабо диссоциирует, обеспечивая проведение только определенного количества молекул исследуемых соединений.

По-видимому, число рецессивных леталей определяется наличием локусов, способных подвергаться мутагенному воздействию исследованных веществ. Их число в X-хромосоме ограничено, что отражается в отсутствии зависимости числа рецессивных леталей в X-хромосоме от величины действующей дозы. Доминантные летали являются как результатом точковых мутаций, так и различных хромосомных перестроек, вызываемых мутагенами. Можно предположить, что число точковых мутаций, вызываемых синтезированными нами аналогами нуклеозидов, — величина постоянная и не зависит от концентрации воздействующего мутагена. Однако хромосомные aberrации, приводящие к развитию доминантного летального ответа, являются результатом не только прямого, но и опосредованного воздействия мутагенов на метаболизм, поэтому с увеличением дозы растут число повреждаемых метаболических шунтов и доминантных летальных мутаций, вызванных этими повреждениями, что и отражается в выявленной нами "дозозависимости".

Подводя итоги проведенным экспериментам, можно отметить, что синтезированные нами структурные аналоги природных нуклеозидов способны индуцировать мутации у *Drosophila melanogaster*.

Литература

- [1] Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. М.: Мир, 1978. 463 с.
- [2] Белоконь Е.М. Методические указания к определению мутагенной активности химических препаратов на дрозофиле. Львов: ЛГУ, 1984. 26 с.

- [3] Дыбан А.П., Баранов В.С., Котин А.М. Действие некоторых антиметаболитов нуклеинового обмена на эмбриогенез млекопитающих // Внешняя среда и развивающийся организм. М.: Наука, 1977. С. 293–325.
- [4] Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
- [5] Селезнева Е.С., Белоусова З.П., Пермякова Е.А. Об эколого-генетической опасности синтетических нуклеозидов // Бюл. Самарская Лука. 1999. № 9/10. С. 208–212.
- [6] Шингарова И.Д., Лебедев А.Т. Химия гетероциклических соединений. М., 1987. 940 с.
- [7] Цырлин В.А., Кузьменко Н.В., Плисе М.Г. Роль имидазолиновых рецепторов в центральной регуляции кровообращения (история и современное состояние вопроса) // Вестник аритмологии. 2001. № 21. С. 18–23.
- [8] 11-imidazoline receptors. Definition, characterisation, distribution and transmembrane signalling / P. Ernsberger [et al.] // Ann N Y Acad. Sci. 1995. Jul 12. V. 763. P. 22–42.

Поступила в редакцию 15/V/2009;
в окончательном варианте — 15/V/2009.

CONCERNING THE MUTAGENIC ACTIVITY OF STRUCTURAL ANALOGUES OF NATURAL NUCLEOSYDES

© 2009 E.S. Selezneva,⁴ Z.P. Belousova,⁵ I.A. Medvedeva⁶

The mutagenic activity of 1- β -*D* eritrofuranozylbensimidazolid, 1- β -*D* eritrofuranozylbensotriazolide, 1- β -*D* ribofuranozylbenso-triazolide on *Drosophila melanogaster* imago in non-toxic doses and in LD50. It was shown that the number of induced recessive lethal mutations was not dependent of tested doses but the number of dominant lethal mutations was reliably increased for LD50. The tested substances induced more dominant lethal mutations in females than in males.

Key words: *Drosophila melanogaster*, dominant and recessive lethal mutations, structural analogues of natural nucleosides.

Paper received 15/V/2009.

Paper accepted 15/V/2009.

⁴Selezneva Ekaterina Sergeevna (catana@yandex.ru), Dept. of Zoology, Genetics and General Ecology, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁵Belousova Zoë Petrovna, Dept. of Organic, Bioorganic and Medical Chemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁶Medvedeva Irina Alexandrovna, "The center of Hygiene and Epidemiology in Sverdlovsk Region", CEF FGUZ.

Уважаемые читатели журнала!

Доводим до вашего сведения, что в статье Е.С. Селезневой, А.И. Иванчиной, Е.И. Теньгаевой, З.П. Белоусовой "Антибактериальная активность производных имидазола", опубликованной в "Вестнике Самарского государственного университета" (2004. № 4(34)), в табл. 3 допущена ошибка в параметрах диаметра зоны ингибирования роста. Ниже публикуем верный вариант табл. 3.

Редакция журнала "Вестник Самарского государственного университета" Естественнонаучная серия

Таблица 3

Способность низких доз имидазола и его производных (I–V) создавать преадаптации у *Staphylococcus aureus* к высокотоксичным дозам этих же соединений

Исследуемое соединение	Диаметр зоны ингибирования роста, мм	
	При воздействии дозой в 10 мг/мл	При преадаптации дозой в 0,001 мг/мл и последующем воздействии дозой 10 мг/мл
I	9,0 ± 1,09	6,1 ± 0,58
II	8,5 ± 1,07	0
III	7,4 ± 0,89	0
IV	7,0 ± 0,69	0
V	6,8 ± 1,03	0