

Т. О. Філіпова², М. Я. Головенко¹, М. Б. Галкін²,
А. С. Редер¹, В. Б. Ларіонов¹

Визначення мутагенної активності анксиолітичних лікарських засобів гідазепаму, левани та інноваційної анагетичної сполуки пропоксазепаму в мікропланшетному варіанті тесту Еймса

¹Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, м. Одеса

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Ключові слова: генні мутації, тест Еймса, 1,4-бенздіазепіни (гідазепам, левана, пропоксазепам)

Останніми роками дослідження в області хімічного мутагенезу отримали значний розвиток. З одного боку, це пов'язано з впровадженням великої кількості різних хімічних речовин у всі сфери життєдіяльності людини, що вимагають генетичного контролю, з іншого, науковими досягненнями зі створення та використання нових тест-систем, що дозволяють провести більш повну оцінку як самих мутагенів, так і їхніх метаболітів [1, 2]. Особливе місце в життєдіяльності людини займають такі широко поширені речовини, як лікарські препарати, число яких постійно збільшується. Мутагенність багатьох з них встановлена на різних генетичних об'єктах [3, 4]. У широкому асортименті лікарських засобів особливу увагу приділяють потенційним нейротропним агентам, серед яких чільне місце займають похідні 1,4-бенздіазепіну. Вони підсилюють дію нейротрансмітера гама-аміномасляної кислоти на ГАМКА-рецепторі, викликаючи седативну, снодійну, анксиолітичну, протисудомну, міорелаксуючу та анагетичну дію. Ці властивості роблять бенздіазепіни корисними в лікуванні тривоги, безсоння, збудження, судом, м'язових спазмів і синдрому відміни алкоголю. Зазначимо, що незважаючи на довготривалість використання препаратів похідних 1,4-бенздіазепіну в

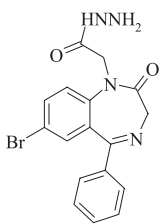
широкій медичній практиці для підтвердження безпечності продовжуються дослідження їхньої токсичності, у тому числі й генотоксичності. Вони знайшли відображення в низці публікацій, на важливіші з них, оглядового характеру, ми посилаємося [5–8].

Клінічна ефективність і безпека гідазепаму та левани підтверджена даними клінічних досліджень, однак, всебічне вивчення медико-біологічних властивостей препаратів триває й сьогодні. Щодо пропоксазепаму, то ця сполука підпадає під вимоги, що стосуються досліджень мутагенності, які є обов'язковою частиною програми доклінічного вивчення безпеки застосування нових фармакологічних засобів і передбачає оцінку здатності до індукції різних типів мутацій у зародкових і соматичних клітинах. У зв'язку з гармонізацією українського та європейського законодавства в галузі регулювання обігу лікарських засобів в Україні зросли вимоги до якості доказової бази з безпеки і, зокрема, генотоксичності лікарських засобів, що відображено в наказі МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів». Керівний документ Європейського Медичного Агентства [9] рекомендує набір методів, що дозволяють реєструвати всі типи генетичних змін. Особливу увагу приділяють методам тестування речовин з використанням мікроорганізмів як тест-об'єктів. Вони набули досить широкого

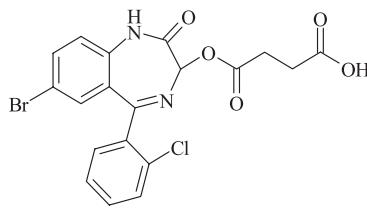
застосування, так як мікроорганізми розмножуються швидко, утримувати їх досить просто й порівняно дешево. Одним з експрес-методів для виявлення мутагенної активності є тест Еймса, що базується на використанні штамів *Salmonella typhimurium*, ауко-трофних за гістидином та здатних під дією мутагенів ревертувати до прототрофності. Ці тест-штами було сконструйовано Еймсом і співавт. [10] спеціально для скринінгових програм досліджень потенційної мутагенної активності факторів навколишнього середовища. Методами генно-інженерних маніпуляцій у геном бактеріальної клітини були введені спеціальні мутації, що забезпечують, з одного боку, максимальну чутливість тест-організмів до дії мутагенних агентів, молекули яких мають різноманітну величину й форму, з іншого – виявлення мутагенних агентів з різними механізмами дії. Так як малігнізація часто пов'язана з пошкодженням ДНК, цей тест також використовується як експресний метод оцінки канцерогенного потенціалу різних хімічних сполук і може бути доповненням стандартного тесту на гризунах.

Мета дослідження – виявити можливе індукування генних мутацій за дії похідних 1,4-бенздіазепіну (гідазепам, левана, пропоксазепам) на штамх *S. typhimurium* TA 98 (мутації за типом зсуву рамки зчитування) і TA 100 (мутації типу заміни пар основ) без та з метаболічною активацією (фракція S9) у мікропланшетному варіанті тесту Еймса (Muta-Chromo Platekit, Biototoxicity, Канада).

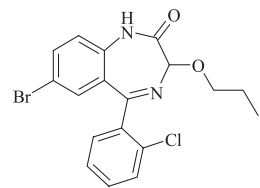
Матеріали та методи. У досліджах було використано відомі препарати: гідазепам (1), левана (2) та інноваційний активний фармацевтичний інгредієнт – пропоксазепам (3).



1



2



3

Гідазепам застосовують як «денний» транквілізатор для лікування дорослих і хворих літнього віку за невротичних, психопатичних астеній, станів, що супроводжуються тривогою, страхом, підвищеною роздратованістю, порушенням сну, а також у разі емоційної лабільності, для гальмування абстинентного синдрому за алкоголізму та підтримуючої терапії під час ремісії за хронічного алкоголізму, у разі логоневрозів, мігрені. Гідазепам можна застосовувати в амбулаторній практиці [11].

Левана є частковим (неповним) селективним агоністом ГАМКА-рецепторного комплексу. Чинить виражену снодійну, анксиолітичну, помірну міорелаксантну та протисудомну дію, посилює ефект снодійних, наркотичних та нейролептичних препаратів, етилового спирту. Особливістю снодійної дії препарату є здатність збільшувати тривалість не тільки повільно хвильового, але й парадоксального сну при незмінній кількості його епізодів, що робить снодійний ефект препарату більш фізіологічним [12].

Пропоксазепаму притаманна анальгетична дія за умов поєднаного (соматогенного та нейропатичного) болювого синдрому. Інноваційність сполуки підтверджена відповідним патентом [13], і вона проходить необхідні доклінічні дослідження.

Усі тестовані сполуки представляли собою тверді порошокподібні речовини, з низьким рівнем розчинення у воді, тому їх розчиняли в твіновій емульсії. У дослідження брали класичні для «мікробного» мутагенезу концентрації: від 10 до 1000 мкг/мл. У контрольному фоновому варіанті в лунку вносили відповідний об'єм розчинника препарату.

У дослідженні було використано мікропланшетний тест-набір Muta-

Chromo Platekit, виробництва фірми Biototoxicity, Канада, який нині є найзатребуванішим в експериментальній практиці тесту Еймса. До його ключових переваг слід віднести використання якісних і сертифікованих штамів, невелику кількість досліджуваної хімічної речовини, а також можливість автоматизації низки стадій у разі проведення великих скринінгових програм. Зручності надає й те, що цей набір містить стандартизовану постмітоходриальну фракцію (S9) печінки щурів, індукованих Aroclor 1254, та НАДФ-Н генеруючу систему.

Експерименти проводили в двох паралельних варіантах – без метаболічної активації та з активацією мікросомною активуючою сумішшю (S9 mix). У варіантах без метаболічної активації реестрували дію прямих мутагенів – сполук, що індукують мутації за рахунок активності первинної структури досліджуваної речовини. Дію промутагенів – речовин, ефект яких обумовлений утворенням мутагенних метаболітів – реестрували в варіантах експерименту з метаболічною активацією.

За допомогою тесту Еймса рееструється здатність досліджуваної речовини і/або її метаболітів індукувати зворотні мутації від ауксотрофності до прототрофності за гістидином у індикаторних штамах *S. typhimurium*, які несуть *his* мутації й не здатні синтезувати гістидин. З метою виявлення різних типів мутацій в експерименті використовували наступні штами *S. typhimurium*:

- ТА 98 (*hisD3052, rfa, Δ uvrB, + R: rkM101*), рееструючий мутації за типом зсуву рамки зчитування;
- ТА 100 (*hisG46, rfa, Δ uvrB, + R: rkM101*), несе мутацію в гістидиновому опероні (місенс-мутація *hisG46*), що дає можливість зафіксувати точкові мутації типу заміни пар основ.

У дослідженні використано флюкційний варіант тесту Еймса, який базується на визначенні ревертованих бактерій за їхньою метаболічною активністю [14]. Негативним контролем є кількість спонтанних ревертантних лунок з проб, що не містили досліджувану сполуку. Позитивний контроль базується на використанні стан-

дартних мутагенів: 2-нітрофлуорен для *Salmonella typhimurium* ТА 98 і азид натрію для *Salmonella typhimurium* ТА 100 у тестах без метаболічної активації.

Усі дослідження здійснювали в 3-разових повторах. Результати враховували в разі наявності мутагенних ефектів у всіх варіантах позитивного контролю та нормального фонового рівня. Досліди проводили відповідно до інструкції фірми виробника тест-набору.

Інкубацію тест-штамів *S. typhimurium* з досліджуваними сполуками проводили в 24-лункових планшетах упродовж 100 хв у середовищі з гістидином. У кожному планшеті 1 лунку відводили на контроль стерильності, 2 лунки – на позитивний контроль та по 3 лунки – на негативний контроль і кожна з концентрацій досліджуваних речовин. По закінченню інкубації матеріал з кожного варіанта досліду вносили в 48 лунок 96-лункових планшетів. Культивування проводили впродовж 72 год у середовищі з індикатором рН (бромкрезоловий пурпуровий), яке не містило гістидину, що забезпечувало ріст тільки ревертованих клітин *S. typhimurium*. Оцінка отриманих даних базувалася на підрахунку кількості лунок, в яких спостерігали зміну кольору середовища з пурпурового на жовтий. Негативним результатом (відсутність мутагенної активності) вважається наявність менш ніж 15 ревертантних лунок серед 48 лунок, позитивним (наявність мутагенної активності) – 25 і більше ревертантних лунок серед 48 лунок і пряма залежність ефекту від концентрації досліджуваної сполуки.

Ріст тест-штамів у присутності різних концентрацій пропоксазепаму оцінювали спектрофотометричним методом [15]. Культивування здійснювали в 96-лункових планшетах упродовж 1 доби в середовищі з гістидином, яке забезпечує ріст штамів сальмонел, ауксотрофних за цією амінокислотою. Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі μ Quant, (Bio-Tek, США) за довжини хвилі 540 нм.

Для обробки вихідних даних тесту в таблицю розрахунків файлу Excel

вносили необхідну інформацію (назва тестованого агента, досліджувані концентрації, одиниці виміру, тестовий штам, метаболічна активація тощо). Потім вносили числові показники (кількість позитивних лунок окремо для кожної повторності) з заповнених вище таблиць у відповідні розділи таблиць. Також розраховували стандартне відхилення показника числа позитивних лунок на концентрацію. Воно є стандартним відхиленням середнього значення числа позитивних лунок на тестовану концентрацію, і кратність перевищення щодо нульової лінії, яке визначалося як відношення середнього значення числа позитивних лунок на тестовану концентрацію до нульової лінії негативного контролю (розчинник). У цьому разі нульову лінію обчислювали складанням середнього числа позитивних лунок для негативного контролю та значення стандартного відхилення.

Результати та їх обговорення. Вибір експериментальної токсикологічної моделі відповідав загальним цілям програми дослідження. Як і у випадку аналізу генотоксичності сполук, де виявлялася дія прямих мутагенів (варіант без метаболічної активації сполук) та промутагенів (ефект яких пов'язаний з утворенням мутагенних метаболітів), аналогічну процедуру проведено для контрольного варіанту, тобто розчинника.

Результати, одержані з використанням штаму *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100, наведено в таблиці 1. Стандартними мутагенами для штамів

було використано 2-нітрофлуорен та азид натрію відповідно. Як показують результати експериментів, у контрольному (фоновому) варіанті частота індукованих мутацій не перевищувала стандартного рівня, відповідного генетичним особливостям кожного з референтних штамів [10, 14]. Для обох штамів нами отримано (табл. 1) близькі за значенням дані щодо контролю стерильності, негативного контролю (розчинник) та позитивного контролю (відповідні мутагени).

Структури метаболітів гідазепаму та левани є добре вивченими [16, 17]. Гідазепам в організмі експериментальних тварин утворює деалкільне похідне з наступним перетворенням до 3-гідроксиметаболіту. Каталізують зазначені процеси CYP3A4 та CYP2C19. Левана метаболізує також до 3-гідроксиметаболіту, але за рахунок дії неспецифічних естераз [16, 18]. В обох випадках не реєстрували реакційно здатні метаболіти, тому в цій серії дослідів нами використано тест без активації. Незважаючи на те, що для пропоксазепаму нами [19] також не виявлено реакційно здатних метаболітів, у тесті було використано моделі без та з активацією, що відповідає вимогам регуляторних органів щодо інноваційних агентів.

Дослідження мутагенної активності зразків пропоксазепаму також показало (табл. 2), що в межах чутливості даного методу сполука не є мутагеном прямої або непрямої дії, яка спроможна індукувати мутації типу зсуву рамки читування генетичної інформації.

Вивчення можливого збільшення

Таблиця 1

Контрольні показники для штамів *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100 (кількість жовтих лунок з 48, $M \pm m$, $n = 3$)

Варіант	Контроль стерильності	Негативний контроль, розчинник	Позитивний контроль, мутагени
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 98 (2-нітрофлуорен)			
Без активації	0	3,0 ± 0,5	32,5 ± 3,1
З активацією + S9	0	2,5 ± 0,7	39,0 ± 2,8
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 100 (азид натрію)			
Без активації	0	3,0 ± 0,4	34,5 ± 2,0
З активацією + S9	0	2,0 ± 0	39,0 ± 3,7

Таблиця 2

Активність гідазепаму, левани та пропоксазепаму в тесті Muta-Chromo Platekit на штамі *Salmonella typhimurium* TA 98 (кількість жовтих лунок з 48, $M \pm m$, $n = 3$)

Варіант	Концентрація, мкг/мл				
	10	100	250	500	1000
Гідазепам	3,3 ± 0,6	5,7 ± 1,2	5,3 ± 2,1	5,7 ± 1,5	7,0 ± 0
Левана	5,0 ± 1,0	5,3 ± 0,6	4,7 ± 1,2	4,0 ± 0	6,0 ± 1,7
Пропоксазепам (б/а)	6,0 ± 2,0	8,3 ± 2,5	н.в.	4,3 ± 0,5	н.в.
Пропоксазепам (S9)	5,0 ± 2,0	4,3 ± 1,1	н.в.	0,7	н.в.

Примітка. Тут і в табл. 3: б/а – без активації, S9 – з активацією, н.в. – не визначали.

кількості ревертантних колоній *Salmonella typhimurium* TA 100 гідазепамом і леваною в експериментах без метаболічної активації (табл. 3) виявилось дещо незвичним. У разі гідазепаму в усіх концентраціях і левани в концентраціях 10–250 мкг/мл були зафіксовані нульові результати. Вони теоретично можуть бути наслідком двох причин: наявності в сполук бактерицидної дії або генозахисних властивостей. Більш вірним здається друге припущення, оскільки після 100-хв інкубації в присутності всіх концентрацій гідазепаму та левани не було зареєстровано пригнічення росту *Salmonella typhimurium* TA 100. Можлива генозахисна дія 1,4-бенздіазепінів, зокрема, гідазепаму та левани становить інтерес як з теоретичної, так і з практичної точки зору, але потребує досконалого вивчення.

Отже дані, що наведені у таблиці 3, свідчать про відсутність у гідазепаму та

левани мутагенного впливу на клітини *Salmonella typhimurium* TA 100 у тесті без активації. Пропоксазепам також не чинить мутагенного впливу на клітини *Salmonella typhimurium* TA 100 ні в тесті з активацією, ані в тесті без активації. Негативний результат у тесті з активацією свідчить про відсутність мутагенної активності також у метаболітів досліджуваної сполуки. Враховуючи той факт, що в деяких експериментах (табл. 3) отримано дещо незвичайні результати, тобто показники були нижчими, ніж у контролі (розчиннику), нами з метою встановлення можливого токсичного впливу похідних 1,4-бенздіазепіну на досліджувані штами в додаткових дослідах на прикладі пропоксазепаму визначено ріст *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100 у присутності вивчених у тестах на мутагенність концентрацій. Культивування здійснювали впродовж 24 год у

Таблиця 3

Активність гідазепаму, левани та пропоксазепаму в тесті Muta-Chromo Platekit на *Salmonella typhimurium* TA 100 (кількість жовтих лунок з 48, $M \pm m$, $n = 3$)

Варіант	Концентрація, мкг/мл				
	10	100	250	500	1000
Гідазепам	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Левана	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1,3 ± 0,3	6,0 ± 1,1
Пропоксазепам (б/а)	4,0 ± 0,7	7,0 ± 1,1	н.в.	6,3 ± 1,2	н.в.
Пропоксазепам (S9)	3,7 ± 0,6	6,0 ± 1,4	н.в.	2,7 ± 0,5	н.в.

Таблиця 4

Ріст тест-штамів *Salmonella typhimurium* під впливом пропоксазепаму (OG_{540} , $M \pm m$, $n = 3$)

Штам <i>Salmonella typhimurium</i>	Контроль	Концентрація, мкг/мл		
		10	100	500
TA 98	0,638 ± 0,075	0,621 ± 0,066	0,632 ± 0,063	0,642 ± 0,058
TA 100	0,376 ± 0,047	0,384 ± 0,038	0,370 ± 0,041	0,364 ± 0,044

рідкому поживному середовищі. Ріст штамів *Salmonella typhimurium* оцінювали спектрофотометрично за показником оптичної густини ($ОГ_{540}$ нм). Результати цього дослідження наведено в таблиці 4, і вони свідчать про відсутність бактерицидної активності в пропоксазепаму.

Аналіз отриманих результатів показав, що досліджувані речовини не виявили здатності індукувати генні мутації у використаних тест-організмів. Система метаболічної активації також не була ефективною, тобто, тестовані 1,4-бенздіазепіни не є ні «прямими», ні «непрямими» мутагенами для штамів тесту Еймса. Незначне перевищення середнього числа ревертантів у дослідах щодо контролю (табл. 1–3) є статистично недостовірними. Чутливість обох тест-штамів щодо досліджуваних речовин виявилася приблизно однаковою, тобто перевищення контрольних значень в обох варіантах дослі-

дів практично не мінялось, що свідчить про однозначність дії цих сполук. Загальним для всього експерименту також є відсутність перевищення числа ревертантів у дослідних варіантах за максимальних концентрацій. Цей феномен характерний для речовин з деякими бактерицидними або бактеріостатичними властивостями. Додаткове тестування цих сполук у різних концентраціях на ріст штамів *Salmonella typhimurium* показало відсутність такої дії.

Висновок

Таким чином, дані, отримані в ході проведення мікропланшетного варіанту тесту Еймса (Muta-Chromo Platekit) на штамів *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100, свідчать про відсутність мутагенної активності в похідних 1,4-бенздіазепінів у вивчених концентраціях. У зв'язку з цим, наявність у них канцерогенних властивостей, пов'язаних з генотоксичністю, є також малоімовірною.

1. Updated recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of the performance of new or improved genotoxicity tests / D. Kirklanda, P. Kasperb, H. Martusc [et al.] // Mutation Research. – 2016. – V. 795. – P. 7–30.
2. Liu D. Q. Recent Advances in Trace Analysis of Pharmaceutical Genotoxic Impurities / D. Q. Liu, M. Sun, A. S. Kord // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2010. – V. 51 (5). – P. 999–1014.
3. GADD45a-GFP Green Screen HC assay results for the ECVAM recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of new genotoxicity tests / L. Birrell, P. Cahill, C. Hughes [et al.] // Mutat. – 2010. – V. 695. – P. 87–95.
4. Metabolism, Genotoxicity, and Carcinogenicity of Comfrey / Nan Mei, Lei Guo, Peter P. Fu [et al.] Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. – 2010. – V. 13 (7–8). – P. 509–526.
5. Absence of liver DNA fragmentation in rats treated with high oral doses of 32 benzodiazepine drugs / P. Carlo, R. Finollo, A. Ledda, G. Brambilla // Fundam Appl Toxicol. – 1989. – V. 12. – P. 34–41.
6. Lafi A. The effects of benzodiazepines upon the fidelity of mitotic cell division in cultured Chinese hamster cells / A. Lafi, E. M. Parry, J. M. Parry // Mutat Res. – 1987. – V. 189. – P. 319–32.
7. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, some pharmaceutical drugs. – V. 66. – Lyon, France : IARC. 1996.
8. Brambilla G. Genotoxicity and carcinogenicity studies of benzodiazepines / G. Brambilla, R. Carrozzino, A. Martelli // Pharmacological Research. – 2007. – V. 56. – P. 443–458.
9. Guidance for Industry. S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. – 2012. – ICH. – 31 p.
10. Bruce A. N. Method for Detecting Carcinogens and Mutagens with the Salmonella mammalian-microsome mutagenicity test / A. Bruce N., McCann J., Yamasaki E. // Mutat. res. – 1975. – P. 347–364.
11. Андронати С. А. Гидазепам / С. А. Андронати, Т. А. Воронина, Н. Я. Головенко. – Киев : Наукова думка, 1992. – 196 с.
12. Вплив циназепаму на структуру циклу снування-неснування у щурів / Л. С. Годлевський, Т. Л. Карасьова, Л. В. Попова [та ін.] // Досягнення біології та медицини. – 2005. – № 2 (6). – С. 22–26.
13. Застосування 7-бром-5-(о-хлорфеніл)-3-пропокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону для гальмування нейропатичного болю та судом різної етіології / А. С. Редер, С. А. Андронати, М. Я. Головенко [та ін.] // Патент України на винахід № 115205. 2017 Вер 25.
14. Curieux F. Study of the genotoxic activity of five chlorinated propanones using the SOS chromotest, the Ames-fluctuation test and the new micronucleus test / F. Curieux, D. Marzin, F. Erb // Mutation Res. – 1994. – V. 341. – P. 1–15.
15. Physical Methods for Microorganisms Detection; Ed.: Wilfred H. Nelson. – CRC Press Inc, 1991. – 155 p.

-
-
16. Головенко Н. Я. Синтез меченых радиоактивными изотопами производных 1,4-бенздиазепина и установление структуры их метаболитов / Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г., Якубовская Л. Н. // Украинский химический журнал. – 1999. – № 65 (9). – С. 34–44.
 17. Метаболізм гідазепаму в організмі щурів / М. Я. Головенко, К. В. Преподобна, О. В. Мазепа, Н. В. Шнейдер // Клінічна фармація. – 2007. – Т. 11, № 3. – С. 6–10.
 18. Головенко М. Я. Кінетика гідролізу карбоксиестеразами снодійного засобу «Левана» в організмі мишей / М. Я. Головенко, В. Б. Ларіонов // Український біохімічний журнал. – 2014. – Т. 86, № 4. – С. 150–157.

Т. О. Філіпова, М. Я. Головенко, М. Б. Галкін, А. С. Редер, В. Б. Ларіонов
Визначення мутагенної активності анксиолітичних лікарських засобів
гідазепаму, левана та інноваційної анальгетичної сполуки пропоксазепаму в
мікропланшетному варіанті тесту Еймса

Проведено дослідження впливу похідних 1,4-бенздіазепіну (гідазепам, левана, пропоксазепам) у концентраціях 10, 100, 250, 500 та 1000 мкг/мл на здатність індукувати генні мутації в тесті Еймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 (мутації за типом зсуву рамки зчитування) і TA 100 (точкові мутації типу заміни пар основ). Експерименти проводили без та з використанням метаболічної активації. У межах чутливості використаного методу за усіх використаних концентрацій сполуки не впливали на ріст обох досліджуваних штамів *Salmonella typhimurium*.

Ключові слова: генні мутації, тест Еймса, 1,4-бенздіазепіни (гідазепам, левана, пропоксазепам)

Т. О. Филиппова, Н. Я. Головенко, Н. Б. Галкин, А. С. Редер, В. Б. Ларионов
Определение мутагенной активности анксиолитических лекарственных
средств гидазепама, леваны и инновационного анальгетического соединения
пропоксазепама в микропланшетном варианте теста Эймса

Проведено дослідження впливу похідних 1,4-бенздіазепіну (гідазепам, левана, пропоксазепам) в концентраціях 10, 100, 250, 500 і 1000 мкг/мл на здатність індукувати генні мутації в тесті Еймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 (сдвиг рамки считывания) і TA 100 (точечные мутации типа замены пар оснований). Експерименти проводили без та з використанням метаболічної активації. В границях чутливості використаного методу во всіх концентраціях соединения не впливали на ріст обох досліджуваних штаммов *Salmonella typhimurium*.

Ключевые слова: генные мутации, тест Эймса, 1,4-бенздиазепины (гидазепам, левана, пропоксазепам)

Filipova T. O., Golovenko M. Ya., Galkin M. B., Reder A. S., Larionov V. B.
Determination of the mutagenic activity for anxiolytics gidazepam, levana and
innovative analgesic propoxazepam in microplate Ames test

1,4-benzodiazepine derivatives (gidazepam, levana and propoxazepam) at concentrations 10, 100, 250, 500 and 1000 µg/ml were tested on their ability to induce gene mutations in the Ames test on *Salmonella typhimurium* strains TA 98 (frame shift) and TA 100 (base pair substitution point mutations). Experiments were performed both without and with the metabolic activation. Within the limits of method sensitivity the compounds at all concentrations did not affect the growth of both studied *Salmonella typhimurium* strains.

Key words: gene mutations, Ames test, 1,4-benzodiazepines (gidazepam, levana, propoxazepam)

Надійшла: 2 жовтня 2017 р.

Контактна особа: Ларіонов Віталій Борисович, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, відділ фізико-хімічної фармакології, Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, буд. 86, Люстдорфська дор., м. Одеса, 65080. Тел.: + 38 0 48 765 94 02.
Електронна пошта: vitaliy.larionov@gmail.com