

УДК 615.28

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ
И ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩЕГО ЭКСТРАКТА
КИРКАЗОНА ЛОМОНОСОВИДНОГО
(*ARISTOLOCHIA CLEMATITIS* L.)
В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO* И *IN VIVO***

**Н. В. Полуконова¹, Н. А. Наволокин¹, А. В. Полуконова¹,
Д. А. Мудрак¹, А. А. Андреева¹, О. А. Аврамец¹, А. Ю. Прилепский²**

¹*Саратовский государственный медицинский университет
имени В. И. Разумовского*

Россия, 410012, Саратов, ул. Б. Казачья, 112

E-mail: polukonovanv@yandex.ru

²*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН
Россия, 410049, Саратов, пр. Энтузиастов, 13*

Экстракт листьев и цветков *Aristolochia clematitidis* содержит флавоноиды и неядовитый. Экстракт обладает цитотоксической и цитостатической активностью у нормальных клеток животных. При концентрациях 15 мг/мл и выше экстракт приводит к 100% гибели клеток линии SPEV. Количество мертвых клеток линии SPEV в целом возрастает при увеличении концентрации экстракта. LC50 экстракта Кирказона устанавливали методом пробит-анализа. LC50 = 7.24 мг/мл. С увеличением концентрации экстракта наблюдалось выраженное уменьшение пролиферативной активности клеток. Через 48 ч торможение пролиферативной активности клеток линии Spev выражена значительно, чем через 24 ч. Процент клеток линии SPEV, погибших под действием экстракта Кирказона становится меньше при увеличении времени экспозиции. Экстракт не проявил противоопухолевой активности в отношении перевиваемого рака печени крыс PC-1 в эксперименте *in vivo*.

Ключевые слова: Кирказон ломоносвидный, *Aristolochia clematitidis*, флавоноиды, культура клеток почки эмбриона свиньи (SPEV), перевиваемый рак печени крыс PC-1.

DOI: 10.18500/1682-1637-2018-2-23-38

ВВЕДЕНИЕ

Кирказон ломоносвидный (*Aristolochia clematitidis* L.) относится к ядовитым растениям за счет содержания в листьях аристолохиевой кислоты.

Однако в народной медицине это растение до сих пор используется для лечения артрита, облегчения родов, в составе добавок для похудения, лечения ревматизма и стабилизации менструального цикла, а также как противоопухолевое средство (Растительные..., 1996), входит в «Противоопухолевый, противоонкологический сбор из 33-х трав» (<http://bozhyuapteka.com/stati-o-travakh/81-sbor-iz-33-kh-trav.html>). Научные данные о противоопухолевой активности и ее механизмах отсутствуют.

В ряде стран продажа и применение содержащих препаратов на основе Кирказона уже запрещены. Так, в 2001 году Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) призвала к прекращению использования любых препаратов, содержащих части растений рода *Aristolochia*, а к 2003 г. многие страны, включая Тайвань, запретили препараты на их основе. Результаты последних исследований показали, что извлечения Кирказона, содержащие аристолохиевую кислоту, обладают выраженным канцерогенным и мутагенным действием. Международное агентство по изучению рака (IARC) отнесло их к онкогенам первой группы, т. е. вызывающим рак у людей и животных. Была показана взаимосвязь извлечений из Кирказона, содержащих аристолохиевую кислоту, и раком верхних мочевыводящих путей и почек: в злокачественных опухолях у больных, принимавших такие извлечения, были обнаружены около 1500 генов с мутациями, в т.ч. и мутации гена P53 (Poon et al., 2013; Hoang et al., 2013).

Нами исследуется водный раствор сухого спиртового экстракта *A. clematitis*, полученный способом, указанным в Патенте № 2482863 (Полуконова и др., 2012) и позволяющим существенно снизить токсичность экстракта и, в то же время, направленным на больший выход флавоноидов (Наволокин и др., 2012; Polukonova et al., 2014). Ранее нами было выявлено наличие целого ряда положительной фармакологической активности у растительных экстрактов, в т.ч. и ядовитых растений, содержащих флавоноиды: противоопухолевой, антикахексической, противотуберкулезной противовоспалительной, жаропонижающей, антимикробной, генопротекторной (Navolokin et al., 2012; Курчатова и др., 2014; Наволокин и др., 2013, 2014, 2015, 2016а, 2016б; Полуконова и др., 2015).

В листьях Кирказона содержатся такие флавоноиды, как: гликозид кверцетина, кверцетин (в гидролизате), в цветках присутствуют: гликозид кверцетина и два флавонол- гликозида и др. (Растительные..., 1996). Полученные нами ранее данные свидетельствуют об отсутствии токсичности, слабой цитогенетической активности полученного таким образом экстракта Кирказона (Андреева и др., 2015, 2016а, 2016б; Байтман и др., 2016; Полуконова и др., 2017).

Цель работы: исследование активности флавоноидсодержащего экстракта Кирказона ломоносovidного в отношении клеток почки эмбриона свиньи в эксперименте *in vitro* и установить наличие или отсутствие его противоопухолевой активности в отношении перевиваемого рака печени крыс *in vivo*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Использован водный раствор сухого спиртового экстракта листьев и цветков Кирказона ломоносovidного (*A. clematitis*). Материалом послужило сырье Кирказона, собранное в Лысогорском районе Саратовской обл. у с. Атаевка. Экстракт получен авторским способом (Патент на изобретение RU 2482863).

Экстракт характеризуется коричневатым цветом; его хроматограмма, полученная методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), содержит компоненты, соответствующие по временам удерживания стандартам нарингина, прунина и нарингенина.

Исследование активности экстракта Кирказона на культуру клеток почек эмбриона свиньи в эксперименте in vitro. Культура клеток почки эмбриона свиньи Spvz взята из криобанка коллекции клеточных культур лаборатории вирусологии научно-исследовательской ветеринарной станции РАСХН (г. Саратов). Культуру клеток выращивали в среде RPMI 4 (10% эмбриональной сыворотки, гентамицин, ампициллин, амфотерицин) в 6-ти луночных планшетах (контрольной и экспериментальных). Контролем служили клетки в среде без экстракта. В шесть лунок вносили раствор экстракта, разведенный в питательной среде с понижением концентрации в каждой лунке в два раза: 30; 15; 7.5; 3.75; 1.85; 0.9375 мг/мл. Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе при 37°C в течение 24 ч. В качестве красителя использовали йодистый пропидий, проникающий в клетки за счет разрушения мембраны и связывающийся с ядерной ДНК. Для визуализации клеток использовали комбинирование нескольких микроскопических режимов регистрации светорассеяния и флуоресценции на микроскопе Leica DM 2500, цифровую видеокамеру Leica DFC 420C с программным обеспечением Leica Application Suite V 3.1.

Фотографирование проводили в разных режимах: в фазовом контрасте (позволяющим анализировать поверхность клеток), при флуоресцентном свечении (позволяющим подсчитывать число мертвых клеток по светящимся красным ядрам, окрашенных йодистым пропидием), в обычном световом режиме (позволяющим визуализировать мертвые клетки с живыми, окрашенными в зеленый цвет акридиновым oran-

жевым). Используются следующие показатели: общее количество всех клеток в поле зрения, количество погибших клеток и количество живых клеток. Для вычисления LC50 экстракта в отношении клеток SPEV использован пробит-анализ (Коросов, Калинин, 2003).

Исследование активности экстракта кирказона в отношении перевиваемого рака печени крыс in vivo. В эксперименте, проводимом в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Хабриев, 2005), использовано 12 самцов белых лабораторных крыс массой 150 ± 50 г, которым имплантировали подкожно в области лопатки по 0.5 мл 25% опухолевой взвеси в растворе Хэнкса штамма альвеолярного рака печени – РС-1, полученного из банка опухолевых штаммов ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. Животные с перевиваемым раком методом случайной выборки были разделены на две группы по 6 крыс – первую контрольную группу, не получавшую экстракт, и вторую – получавшую экстракт. В опытной группе крысам раствор вводили внутримышечно в дозировке 100 мг/кг, один раз в сутки в течение 16 дней с момента трансплантации опухоли. После отмены введения экстракта наблюдения за животными продолжались еще неделю. Динамику роста опухоли оценивали по изменению ее объема по формуле: $V = A \times B \times C$, где A – ширина, B – толщина, C – высота опухоли. Измерения проводили электронным штангенциркулем каждые два дня от начала эксперимента. На 23-е сутки крыс выводили из эксперимента и производили забор образцов ткани органов, опухоли, крови для дополнительных исследований.

Работу с лабораторными животными осуществляли согласно протоколу исследований, не противоречащих Женевской Конвенции 1985 г. о «Международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных». Тема и описания экспериментов одобрены этической комиссией ГБОУ ВПО СГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России (протокол № 13 от 3 мая 2011 г.).

Статистическую обработку результатов проводили в программе «SPSS 13.0» методами медико-биологической статистики, значимость различий при непараметрическом распределении определяли при помощи Критерия Манна-Уитни для независимых выборок при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование активности флавоноидсодержащего экстракта Кирказона ломоносвидного в отношении клеток почки эмбриона свиньи в эксперименте *in vitro*. В контроле находились живые клетки полигональной формы с 2–3 ядрышками. Происходило видимое равномер-

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА КИРКАЗОНА

ное увеличение числа клеток и формирование монослоя в течение 24 ч. Полный монослой формировался за 48 ч.

Таблица 1. Сравнение числа клеток в эксперименте под действием экстракта Кирказона при разных концентрациях и в контроле

Table 1. Comparison of the number of cells in the experiment under the action of *A. clematitii* extract at different concentrations and in the control probe

| Показатели Indicators | Общее кол-во клеток A common number of cells | Кол-во погибших клеток Number of dead cells | Кол-во живых клеток Number of living cells |
|---|---|---|---|
| Условия эксперимента Experiment parameters | | | |
| Контроль [Control] 24 ч [h] | 481.3 ± 130.90 | 2.33 ± 1.500 (0.47% ± 0.001) | 479.0 ± 130.09 |
| 30 мг/мл [mg/ml] 24 ч [h] | 79.75 ± 72.060 P ≤ 0.005 | 79.75 ± 72.060 (100 %) P ≤ 0.005 | 0.0 ± 0.00 |
| 15 мг/мл [mg/ml] 24 ч [h] | 102.5 ± 50.68 P ≤ 0.005 | 102.5 ± 50.68 (100 %) P ≤ 0.005 | 0.0 ± 0.00 |
| 7.5 мг/мл [mg/ml] 24 ч [h] | 209.5 ± 74.77 P ≤ 0.005 | 114 ± 48.9 (54.15% ± 6.64) P ≤ 0.005 | 95.5 ± 31.45 P ≤ 0.005 |
| 3.75 мг/мл [mg/ml] 24 ч [h] | 305.25 ± 54.020 <i>P</i> = 0.02 | 31.0 ± 17.16 (10.16% ± 2.94) <i>P</i> = 0.02 | 274.25 ± 38.480 <i>P</i> = 0.002 |
| 1.875 мг/мл [mg/ml] 24 ч [h] | 322.75 ± 38.600 <i>P</i> = 0.03 | 38.25 ± 26.110 (11.39% ± 6.36) P = 0.02 | 31.0 ± 27.30 <i>P</i> = 0.003 |
| 0.9375 мг/мл [mg/ml] 24 ч [h] | 325.75 ± 77.070 <i>P</i> = 0.02 | 41.25 ± 29.680 (11.94% ± 9.46) P ≤ 0.005 | 284.5 ± 53.03 P ≤ 0.005 |
| Контроль [Control] 48 ч [h] | 461 ± 110.9 | 9.0 ± 9.11 (1.99 ± 0.19) | 452.0 ± 109.66 |
| 1.875 мг/мл [mg/ml] 48 ч [h] | 49 ± 6.0 P = P ≤ 0.005 | 6.66 ± 7.200 (12.78% ± 5.05) P = P ≤ 0.005 | 42.33 ± 4.040 P ≤ 0.005 |

В эксперименте. При воздействии экстракта во всех концентрациях по сравнению с контролем, отмечали значительное увеличение

числа клеток, не прикрепленных к подложке, форма которых менялась от полигональной формы до округлой. Статистически значимые отличия в культуре клеток под действием экстракта выявлены при всех концентрациях по сравнению с контролем (см. табл. 1). При концентрации экстракта 15 мг/мл и выше через 24 ч происходила 100% гибель клеток.

Под действием экстракта Кирказона при всех концентрациях происходило уменьшение общего количества клеток, что свидетельствует о подавлении пролиферативной активности неопухолевых клеток линии Sp7v (рис. 1). С увеличением концентрации экстракта наблюдалось выраженное уменьшение пролиферативной активности клеток.

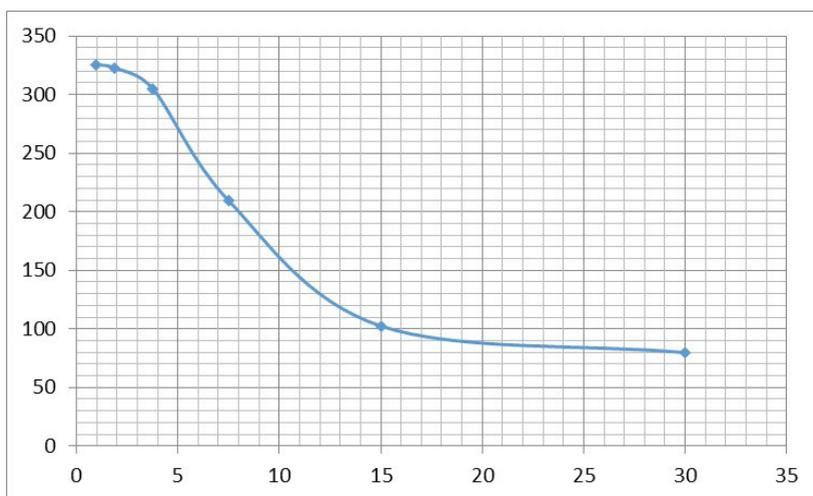


Рис. 1. Зависимость общего количества клеток от концентрации экстракта Кирказона. По вертикали – общее количество клеток линии Sp7v, по горизонтали – концентрации экстракта

Fig. 1. Dependence of the total number of cells on the concentration of *A. clematitis* extract. Vertically – the total number of cells of the Sp7v line, horizontally – the concentration of the extract

Через 48 ч торможение пролиферативной активности клеток линии Sp7v выражена значительно, чем через 24 ч (табл. 2). Количество мертвых клеток линии Sp7v в целом возрастает при увеличении концентрации экстракта Кирказона (рис. 2). Методом пробит-анализа была установлена LC50 экстракта Кирказона, она равна значению 7.24 мг/мл.

Таблица 2. Сравнение общего количества клеток линии Sprev под действием экстракта Кирказона в концентрации 1.875 мг/мл через 24 ч и 48 ч

Table 2. Comparison of the total number of cells of the Sprev line under the action of *A. clematitis* extract at a concentration of 1.875 mg/ml after 24 h and 48 h

| Время экспозиции Exposition time | Контроль Control probe | Эксперименте Experiment probe |
|-------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| 24 ч | 481.3 ± 130.9 | 322.75 ± 38.6 |
| 48 ч | 461 ± 110.9 | 49 ± 6.0 |

Процент клеток линии Sprev, погибших под действием экстракта Кирказона становится меньше при увеличении времени экспозиции (табл. 3).

Исследование биологической активности флавоноидсодержащего экстракта Кирказона ломоносовидного в отношении перевиваемого рака печени крыс *in vivo*. В контроле заметный рост опухоли наблюдали на 11 сутки (рис. 3), который плавно повышался до конца эксперимента.

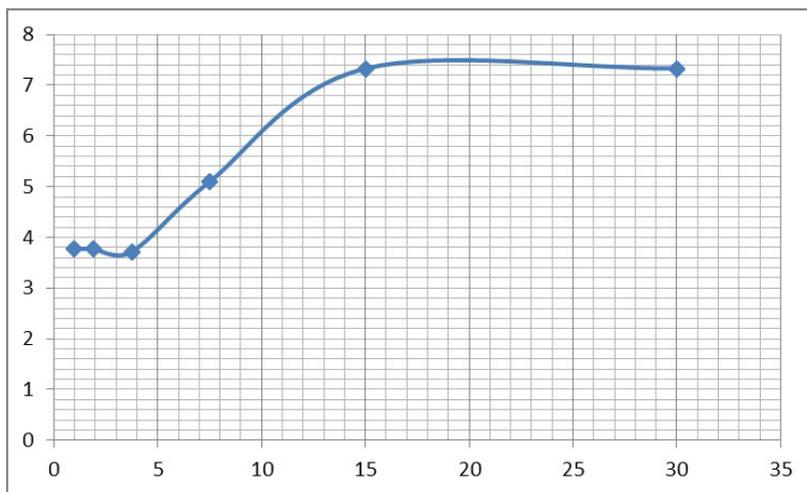


Рис. 2. Зависимость доли мертвых клеток от концентрации экстракта Кирказона, нормированного на контроль. По вертикали указаны пробиты, по горизонтали – концентрации экстракта

Fig. 2. Dependence of the percentage of dead cells on the concentration of *A. clematitis* extract, normalized for control. Vertically – probits, horizontally – concentration of extract

В группе крыс с перевитой опухолью под действием экстракта рост опухоли до 16 дня наблюдений не отличался от контроля, а начиная с 17-го дня стал выше, чем в контроле.

Таблица 3. Сравнение доли погибших клеток линии Spev под действием экстракта Кирказона в концентрации 1.875 мг/мл через 24 ч и 48 ч, нормированное на контроль

Table 3. Comparison of percent of dead cells of the Spev line under the action of the extract of *A. clematitis* at a concentration of 1.875 mg/ml after 24 hours and 48 hours, normalized for control

| Время экспозиции Exposition time | Доля погибших клеток, % Share of dead cells, % |
|-------------------------------------|---|
| 24 ч | 10.92 |
| 48 ч | 10.79 |

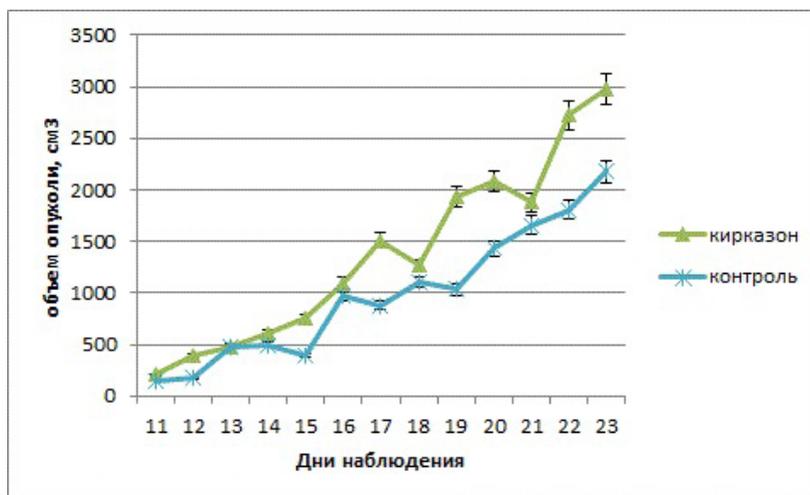


Рис. 3. Динамика роста перевиваемой опухоли крыс PC-1 под действием экстракта Кирказона ломоносовидного. По вертикали указан объем опухоли в мм³, по горизонтали – дни измерений

Fig. 3. Dynamics of growth of the transplanted tumor of rats PC-1 under the action of *A. clematitis* extract of lomonosomes. Vertical – tumor volume in mm³, horizontally – measurement days

Результаты анализа массы опухоли на конец эксперимента полностью соответствуют динамике ее роста. Масса опухоли практически не отличалась от контроля, из чего следует, что исследованный нами экстракт в выбранной дозировке не обладает противоопухолевой активностью. Полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии действия экстракта Кирказона на перевиваемую опухоль PC-1.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА КИРКАЗОНА

Аналогичные результаты были получены ранее на экстрактах таких растений, как Таволги вязолистной и Кипрея узколистного (Полуконова и др., 2017, 2018). Так, под действием экстрактов Таволги и Кипрея наблюдается даже увеличение объема опухоли крыс, по-видимому, те флавоноиды, которые входили в состав этих экстрактов, не обладали противоопухолевой активностью.

ВЫВОДЫ

Таким образом, флавоноидсодержащий экстракт Кирказона не обладает противоопухолевой активностью в отношении перевиваемого рака печени крыс РС-1 и, учитывая выраженную цитотоксичность в отношении неопухолевых клеток линии SPEV, скорее всего, окажется бесперспективным для дальнейшего исследования его противоопухолевой активности в отношении других типов опухоли.

Работа выполнена при поддержке Минздрава РФ, государственное задание АААА-А18-118030590040-9 «Исследование экстрактов лекарственных растений, содержащих флавоноиды и их фракции с целью создания препаратов, обладающих противоопухолевой, антиоксидантной, антикахексической и другой активностью»

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Андреева А. А., Гелевера Н. И., Шаркова Е. А., Полуконова А. В., Прилепский А. Ю., Полуконова Н. В. Сравнение активности экстрактов кирказона ломоносovidного (*Aristolochia clematidis*) и кипрея узколистного (*Chamerion angustifolium*) на культуру клеток SPEV-2 // Саратовский научно-медицинский журнал. 2016а. Т. 12, № 2. С. 226.

Андреева А. А., Шаркова Е. А., Полуконова Н. В. Показатели функциональной активности политенных хромосом *Chironomus* для цито- и генотоксического исследования растительных экстрактов // Неделя науки – 2016: Матер. Всерос. молодёжн. форума с междунар. участием. Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2016б. С. 372 – 375.

Андреева А. А., Шаркова Е. А., Полуконова Н. В. Сравнительный токсикологический анализ водной и хлороформной фракций экстрактов кирказона ломоносovidного // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы: Матер. II Междунар. науч. конф. Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос. аграрн. ун-та, 2015. С. 179 – 181.

Аренс Л. Е. Кирказон ломоносovidный как народное лекарственное растение // Природа. 1949. № 2. С. 61 – 62.

Байтман Т. П., Полуконова А. В., Прилепский А. Ю., Полуконова Н. В. Сравнение биологической активности растительных экстрактов в экспериментах *in vitro* по показателю LC50 // Неделя науки – 2016: Матер. Всерос. молодёжн.

форума с междунар. участием. 2016. С. 378 – 381.

Барабой В. А. Растительные фенолы и здоровье человека. М.: Наука, 1984. 158 с.

Коросов А. В., Калинин Н. М. Количественные методы экологической токсикологии: учебно-методическое пособие. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ КНЦ, 2003. 56 с.

Курчатова М. Н., Дурнова Н. А., Полуконова Н. В. Влияние экстрактов, содержащих биофлавоноиды, на индукцию микроядер диоксидином в эритроцитах крови беспородных белых мышей // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2014. № 2. С. 58 – 65.

Наволокин Н. А., Мудрак Д. А., Матвеева О. В., Тычина С. А., Бучарская А. Б., Полуконова Н. В., Маслякова Г. Н. Влияние растительных экстрактов, содержащих флавоноиды, на лейкоцитарную формулу и красный костный мозг лабораторных крыс с перевитой саркомой 45 // Успехи современного естествознания. 2015. № 4. С. 134 – 140.

Наволокин Н. А., Мудрак Д. А., Полуконова Н. В., Тычина С. А., Корчаков Н. В., Бучарская А. Б., Маслякова Г. Н. Оценка противоопухолевой и антикахектической активности экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) у крыс с перевитой саркомой // Сибирский онкологический журнал. 2016а. Т. 15, № 1. С. 37 – 43.

Наволокин Н. А., Мудрак Д. А., Полуконова Н. В., Тычина С. А., Канаева Т. В., Бучарская А. Б., Маслякова Г. Н. Антикахектическая и противоопухолевая активность флавоноидсодержащего экстракта бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*) при пероральном введении крысам с перевитой саркомой-45 // Злокачественные опухоли. 2016б. № 4 (20). С. 329 – 330.

Наволокин Н. А., Полуконова Н. В., Бучарская А. Б., Маслякова Г. Н. Морфофункциональные изменения у лабораторных крыс с перевитым раком печени РС-1 при длительном пероральном введении флавоноидсодержащих экстрактов // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2012. № S1. С. 277 – 278.

Наволокин Н. А., Полуконова Н. В., Маслякова Г. Н., Скворцова В. В., Байтман Т. П., Бучарская А. Б., Дурнова Н. А. Противоопухолевая активность растительных экстрактов, содержащих биофлавоноиды // Российский биотерапевтический журнал. 2013. Т. 12, № 2. С. 59 – 59а.

Наволокин Н. А., Полуконова А. В., Библикова О. А., Полуконова Н. В., Маслякова Г. Н., Бучарская А. Б. Цитоморфологические изменения в культуре клеток почки эмбриона свиньи при воздействии экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) // Фундаментальные исследования. 2014. № 10 – 7. С. 1369 – 1374.

Полуконова Н. В., Наволокин Н. А., Дурнова Н. А., Маслякова Г. Н., Бучарская А. Б. Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью // Патент 2482863 РФ, МПК А61К 36/80, В01D 11/02. Заявитель и патентообладатель Полуконова Н. В., Наволокин Н. А. – № 2012105384; заяв. 15.02.2012; опубл. 27.05.2013, Бюл. № 15.

Полуконова Н. В., Наволокин Н. А., Райкова С. В., Маслякова Г. Н., Бучар-

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА КИРКАЗОНА

ская А. Б., Дурнова Н. А., Шуб Г. М. Противовоспалительная, жаропонижающая и антимикробная активность флавоноидсодержащего экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78, № 1. С. 34 – 38.

Полуконова Н. В., Наволокин Н. А., Байтман Т. П., Шаркова Е. А., Аврамец О. А., Полуконова А. В., Мудрак Д. А. Сравнение динамики роста опухоли крыс РС-1 под действием экстрактов таволги, кипрея и кирказона // Инновационные технологии в фундаментальной, клинической и профилактической медицине: сб. науч. тр. Саратов: Изд-во СГМУ, 2018. С. 90 – 92.

Полуконова Н. В., Байтман Т. Н., Полуконова А. В., Наволокин Н. А., Аврамец О. А., Прилепский А. Ю., Гелевера Н. И., Бучарская А. Б. Исследование активности флавоноидсодержащего экстракта кипрея узколистного (*Chamerion angustifolium*) в экспериментах *in vitro* и *in vivo* // Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета. 2017. Т. 15, вып. 4. С. 3 – 15.

Полуконова Н. В., Андреева А. А., Шаркова Е. А. Исследование экстракта кирказона ломоносовидного (*Aristolochia clematidis*) по показателям активности колец Бальбиани и Ядрышкового организатора политенных хромосом // Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета. 2017. Т. 15, вып. 3. С. 33 – 40.

Растительные ресурсы СССР. Т. 1 Цветковые растения, их химический состав, использование. Л.: Наука, 1984. 464 с.

Растительные ресурсы России и сопредельных государств. СПб.: Мир и Семья, 1996. 571 с.

Hoang M. L., Chen C. H., Sidorenko V. S., He J., Dickman K. G., Yun B. H., Moriya M., Nkafis N., Douville C., Karchin R., Turesky R. J., Pu Y. S., Vogelstein B., Papadopoulos N., Grollman A. P., Kinzler K. W., Rosenquist T. A. Mutational Signature of Aristolochic Acid Exposure as Revealed by Whole-Exome Sequencing // Science Translational Medicine. 2013 Aug 7; Vol. 5 (197): 197 ra102. doi: 10.1126/scitranslmed.3006200

Navolokin N. A., Polukonova N. V., Maslyakova G. N., Bucharskaya A. B., Durnova N. A. Effect of extracts of *Gratiola officinalis* and *Zea mays* on the tumor and the morphology of the internal organs of rats with trasplanted liver cancer // Russian Open Medical Journal. 2012. Т. 1, № 2. С. 0203.

Polukonova N. V., Kurchatova M. N., Navolokin N. A., Bucharskaya A. B., Durnova N. A., Maslyakova G. N. A new extraction method of bioflavonoids from poisonous plant (*Gratiola officinalis* L.) // Russian Open Medical Journal. 2014. Т. 3, № 3. С. 304.

Poon S. L., Pang S. T., McPherson J. R., Yu W., Huang K. K., Guan P., Weng W. H., Siew E. Y., Liu Y., Heng H. L., Chong S. C., Gan A., Tay S. T., Lim W. K., Cutcutache I., Huang D., Ler L. D., Nairismägi M. L., Lee M. H., Chang Y. H., Yu K. J., Chan-On W., Li B. K., Yuan Y. F., Qian C. N., Ng K. F., Wu C. F., Hsu C. L., Bunte R. M., Stratton M. R., Futreal P. A., Sung W. K., Chuang C. K., Ong C. K., Rozen S. G., Tan P., Teh B. T. Genome-Wide Mutational Signatures of Aristolochic Acid and Its Application as a Screening Tool // Science Translational Medicine. 2013 Aug 7; Vol. 5 (197): 197 ra101. doi: 10.1126/scitranslmed.3006086

Образец для цитирования:

Полуконова Н. В., Наволокин Н. А., Полуконова А. В., Мудрак Д. А., Андреева А. А., Аврамец О. А., Прилепский А. Ю. Исследование цитотоксической и цитостатической активности флавоноидсодержащего экстракта кирказона ломоносовидного (*Aristolochia clematitis* L.) в экспериментах *in vitro* и *in vivo* // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2018. Т. 16, вып. 2. С. 23–38.
DOI: 10.18500/1682-1637-2018-2-23-38.

**INVESTIGATION OF CYTOTOXIC AND CYTOSTATIC ACTIVITY
OF FLAVONOID-CONTAINING EXTRACT
OF KIRKAZONE OF LOMONOSOVIDE
(*ARISTOLOCHIA CLEMATITIS* L.) IN EXPERIMENTS
IN VITRO AND IN VIVO**

**N. V. Polukonova¹, N. A. Navolokin¹, A. V. Polukonova¹,
D. A. Mudrak¹, A. A. Andreeva¹, O. A. Avramets¹, A. Yu. Prilepsky²**

¹*V. I. Razumovsky Saratov State Medical University
112 B. Kazachya Str., Saratov 410012, Russia
E-mail: polukonovanv@yandex.ru*

²*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,
Russian Academy of Sciences
13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia*

Received 10 April 2018, Accepted 23 April 2018

Extract of *folia* and *flores Aristolochia clematitidis* contains flavonoids and non-toxic. The extract has cytotoxic and cytostatic activity in normal animal cells. At concentrations of 15 mg/ml and higher, the extract results in 100% cell death of the Spev line. The number of dead cells of the Spev line as a whole increases with increasing concentration of the extract. The LC50 of the Kirkazon extract was determined by the probit analysis method. LC50=7.24 mg/ml. With an increase in the concentration of the extract, a marked decrease in the cell's polymeric activity was observed. After 48 hours, the inhibition of the proliferative activity of the Spev cells is more pronounced than 24 hours later. The percentage of the Spev cells killed by the Kirkazon extract becomes smaller with increasing exposure time. The mass of the transplanted tumor of rats practically did not differ from the control group without exposure. The extract showed no antitumor activity against transplantable liver cancer of rats PC-1 in an *in vivo* experiment.

Key words: *Aristolochia clematitidis*, flavonoids, pig kidney kidney cell (Spev) culture, transplantable liver cancer of rats PC-1

DOI: 10.18500/1682-1637-2018-2-23-38

REFERENCES

Andreeva A. A., Gelevera N. I., Sharkova E. A., Polukonova A. V., Prilepsky A. Yu., Polukonova N. V. Comparison of the Activity of Extracts of Kirkazon lomonosovidny (*Aristolochia clematitidis*) and Krapreya angustifolia (*Chamerion angustifolium*) on the Culture of Cells SPEV-2. *Saratov Journal of Medical Scientific*

Research, 2016a, vol. 12, iss. 2, pp. 226. (in Russian)

Andreeva A. A., Sharkova E. A., Polukonova N. V. The Indices of the Functional Activity of the *Chironomus* Polytene Chromosomes for the Cyto- and Genotoxic Study of Plant Extracts. In: *Week of Science – 2016: Materials of the All-Russian Youth Forum with International Participation*. Stavropol; Izdatel'stvo StSMU, 2016b. pp. 372 – 375. (in Russian)

Andreeva A. A., Sharkova E. A., Polukonova N. V. Comparative Toxicological Analysis of the Aqueous and Chloroform Fractions of Extracts of Kirkazon lomonosovidny. In: *Medicinal Plants: fundamental and applied problems: Materials of the II International Scientific Conference*. Novosibirsk: Izdatel'stvo Novosibirskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta, 2015. pp. 179 – 181. (in Russian)

Arens L. E. Kirkazon lomonosovidny as the National Medicinal Plant. *Priroda*, 1949, № 2, pp. 61 – 62. (in Russian)

Baitman T. P., Polukonova A. V., Prilepsky A. Yu., Polukonova N. V. Comparison of the Biological Activity of Plant Extracts in Experiments *in vitro* According to LC50. In: *Week of Science – 2016: Materials of the All-Russian Youth Forum with International Participation*. Stavropol; Izdatel'stvo StSMU, 2016. pp. 378 – 381. (in Russian)

Baraboi V. A. *Plant Phenols and Human Health*. Moscow: Nauka Publ., 1984. 158 p. (in Russian)

Hoang M. L., Chen C. H., Sidorenko V. S., He J., Dickman K. G., Yun B. H., Moriya M., Niknafs N., Douville C., Karchin R., Turesky R. J., Pu Y. S., Vogelstein B., Papadopoulos N., Grollman A. P., Kinzler K. W., Rosenquist T. A. Mutational Signature of Aristolochic Acid Exposure as Revealed by Whole-Exome Sequencing. *Science Translational Medicine*. 2013 Aug 7; vol. 5 (197): 197 ra102. doi: 10.1126/scitranslmed.3006200

Korosov A. V., Kalinkina N. M. *Quantitative Methods of Environmental Toxicology: a Teaching Aid*. Petrozavodsk: Izdatel'stvo of PetrSU KSC. 2003. 56 p. (in Russian)

Kurchatova M. N., Durnova N. A., Polukonova N. A. The Effect of Extracts Containing Bioflavonoids on the Induction of Micronuclei with Dioxydin in Blood Erythrocytes of Nonbred White Mice. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2014, vol. 2, pp. 58 – 65. (in Russian)

Navolokin N. A., Polukonova N. V., Maslyakova G. N., Bucharskaya A. B., Durnova N. A. Effect of Extracts of *Gratiola officinalis* and *Zea mays* on the Tumor and the Morphology of the Internal Organs of Rats with Transplanted Liver Cancer. *Russian Open Medical Journal*, 2012, vol. 1, iss. 2, P. 0203.

Navolokin N. A., Mudrak D. A., Matveeva O. V., Tychina S. A., Bucharskaya A. B., Polukonova N. V., Maslyakova G. N. Effect of Plant Extracts Containing Flavonoids on the Leukocyte Formula and Red Bone Marrow of Laboratory Rats with Transfused Sarcoma 45. *The Successes of Modern Natural Science*, 2015, vol. 4, pp. 134 – 140. (In Russian)

Navolokin N. A., Mudrak D. A., Polukonova N. V., Tychina S. A., Korchakov N. V., Bucharskaya A. B., Maslyakova G. N. Evaluation of the Antitumor and Anti-acetic

Activity of the Medicinal Drug Avrana Extract (*Gratiola officinalis* L.) in Rats with Transfused Sarcoma. *Siberian Journal of Oncology*, 2016a, vol. 15, iss. 1., pp. 37 – 43. (in Russian)

Navolokin N. A., Mudrak D. A., Polukonova N. V., Tychina S. A., Kanaeva T. V., Bucharskaya A. B., Maslyakova G. N. Antioxidic and Antitumor Activity of the Flavonoid-containing Extract of the Immortelle Sand (*Helichnysum arenarium*) with Oral Administration to Rats with Interleaved Sarcoma-45. *Malignant Tumors*, 2016b, vol. 4 (20), pp. 329 – 330. (in Russian)

Navolokin N. A., Polukonova N. V., Bucharskaya A. B., Maslyakova G. N. Morphofunctional changes in laboratory rats with interleaved liver cancer PC-1 with prolonged oral administration of flavonoid-containing extracts. *Bulletin of the Russian State Medical University*, 2012, iss. S1, pp. 277 – 278. (in Russian)

Navolokin N. A., Polukonova N. V., Maslyakova G. N., Skvortsova V. V., Baitman T. P., Bucharskaya A. B., Durnova N. A. Antitumor activity of plant extracts containing bioflavonoids. *Russian Journal of Biotherapy*, 2013, vol. 12, iss. 2, pp. 59 – 59a. (in Russian)

Navolokin N. A., Polukonova A. V., Bibikova O. A., Polukonova N. V., Maslyakova G. N., Bucharskaya A. B. Cytomorphological Changes in the Culture of Kidney Cells of a Pig Embryo under the Influence of an Extract of Avran medicinal (*Gratiola officinalis* L.). *Basic Research*, 2014, vol. 10 – 7, pp. 1369 – 1374.

Plant Resources of the USSR. Vol. 1: Angiosperms, their Chemical Composition, Use. Leningrad: Nauka Publ., 1984. 464 p.

Plant Resources of Russia and Neighboring Countries. Saint-Peterburg: Mir i Semya Publ., 1996. 571 p.

Polukonova N. V., Navolokin N. A., Durnova N. A., Maslyakova G. N., Bucharskaya A. B. A method for obtaining a dry extract from a plant material having a biological activity. *RU 2482863 dated February 15, 2012.*

Polukonova N. V., Navolokin N. A., Raikova S. V., Maslyakova G. N., Bucharskaya A. B., Durnova N. A., Shub G. M. Anti-Inflammatory, Antipyretic and Antimicrobial Activity of Flavonoid-Containing Extract of *Gratiola officinalis* L. *Experimental and Clinical Pharmacology*, 2015, vol. 78, iss. 1, pp. 34 – 38.

Polukonova N. V., Navolokin N. A., Baitman T. P., Sharkova E. A., Avramets O. A., Polukonova A. V., Mudrak D. A. Comparison of the Dynamics of Tumor Growth of Rats PC-1 under the Action of Extracts of Tagolga, Cyprus and Kirkazone. In: *Innovative Technologies in Fundamental, Clinical and Preventive Medicine: Collection of Scientific Papers.* Saratov: Izdatel'stvo SSMU, 2018. pp. 90 – 92.

Polukonova N. V., Baitman T. P., Polukonova A. V., Navolokin N. A., Avramets O. A., Prilepsky A. Yu., Gelevera N. I., Bucharskaya A. B. Investigation of the activity of the flavonoid-containing *Chamerion angustifolium* extract in the experiments *in vitro* and *in vivo*. *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2017, vol. 15, iss. 4, pp. 3 – 15.

Polukonova N. V., Andreeva A. A., Sharkova E. A. Investigation of the *Aristolochia clematitis* Extract by Analyzing the Activity of the Balbiani Rings

and the Nuclear Organizer in Polytene Chromosomes. *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2017, vol. 15, iss. 3, pp. 33 – 40.

Polukonova N. V., Kurchatova M. N., Navolokin N. A., Bucharskaya A. B., Durnova N. A., Maslyakova G. N. A New Extraction Method of Bioflavonoids from Poisonous Plant (*Gratiola officinalis* L.). *Russian Open Medical Journal*, 2014, vol. 3, iss. 3, P. 304.

Poon S. L., Pang S. T., McPherson J. R., Yu W., Huang K. K., Guan P., Weng W. H., Siew E. Y., Liu Y., Heng H. L., Chong S. C., Gan A., Tay S. T., Lim W. K., Cutcutache I., Huang D., Ler L. D., Nairismägi M. L., Lee M. H., Chang Y. H., Yu K. J., Chan-On W., Li B. K., Yuan Y. F., Qian C. N., Ng K. F., Wu C. F., Hsu C. L., Bunte R. M., Stratton M. R., Futreal P. A., Sung W. K., Chuang C. K., Ong C. K., Rozen S. G., Tan P., Teh B. T. Genome-Wide Mutational Signatures of Aristolochic Acid and Its Application as a Screening Tool. *Science Translational Medicine*. 2013 Aug 7; vol. 5 (197): 197 ra101. doi: 10.1126/scitranslmed.3006086

The work was supported by the Ministry of Health of the Russian Federation, state task AAAA-A18-118030590040-9 “Study of extracts of medicinal plants containing flavonoids and their fractions for the purpose of creating drugs that possess antitumor, antioxidant, antiexchic and other activity”

Cite this article as:

Polukonova N. V., Navolokin N. A., Polukonova A. V., Mudrak D. A., Andreeva A. A., Avramets O. A., Prilepsky A. Yu. Investigation of Cytotoxic and Cytostatic Activity of Flavonoid-containing Extract of Kirkazone of Iomonosovide (*Aristolochia clematitis* L.) in Experiments *in vitro* and *in vivo*. *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2018, vol. 16, iss. 2, pp. 23–38 (in Russian).
DOI: 10.18500/1682-1637-2018-2-23-38.
