

Т. И. Ширшова¹, И. В. Бешлей¹, В. П. Дерягина², Н. И. Рыжова², Н. В. Матистов¹

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ *A. schoenoprasum* L. И ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ИХ ЭКСТРАКТОВ НА ОПУХОЛЕВЫЙ РОСТ У МЫШЕЙ

¹ Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия;

² НИИ канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва, Россия

Комплексное исследование химического состава культивируемого растения *A. schoenoprasum* L. из коллекции Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН показало, что его листья содержат широкий спектр биологически активных веществ и микронутриентов, участвующих в антиоксидантной и антиканцерогенной защите организма человека. Эксперимент по изучению противоопухолевого потенциала тестируемого вещества показал, что водный и водно-спиртовой экстракты листьев лука проявляют тенденцию к ингибированию роста подкожно перевиваемой карциномы Эрлиха у мышей-самцов BDF на стадии ее интенсивного развития.

Ключевые слова: *A. schoenoprasum* L.; экстракт; антиканцерогенное действие.

Различные виды лука с древнейших времен используются как пищевые и лекарственные растения [1]. В арсенал современной медицины входят препараты, созданные на основе экстрактов из лука репчатого *Allium cepa* L. и чеснока *A. sativum* L., влияющие на моторику желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистую систему или обладающие бактерицидными свойствами [2, 3]. К настоящему времени получены экспериментальные и эпидемиологические доказательства того, что ряд биологически активных соединений (БАВ), входящих в состав лука, может подавлять пролиферацию опухолевых клеток разного генеза, а также снижать риск развития неоплазий ряда органов, в том числе толстой кишки, желудка, репродуктивных органов и др. [4–7]. Разработано несколько способов получения препаратов с противоопухолевым действием, содержащих эфирные масла чеснока и лука репчатого [1]. Такой широкий спектр действия лука обусловлен богатством его химического состава, который представлен витаминами, фитонцидами, флавоноидами, сахарами, алкалоидами, стероидными гликозидами и другими ценными БАВ и полезными микронутриентами. В литературе неоднократно отмечались высокие антиоксидантные свойства многолетних луков, обусловленные как наличием специфических химических форм селена, так и высокими концентрациями флавоноидов, витаминов Е и С [8].

Родовой комплекс *Allium* в Республике Коми представлен 3 видами — *A. angulosum* L., *A. schoenoprasum* L. и *A. strictum* Schrad., среди которых *A. schoenoprasum* (лук скорода, резанец, шнитт) имеет самый широкий ареал распространения, произрастает практически на всей территории республики [9], введен в культуру и широко используется населением в качестве

пищевого и лекарственного растения. Комплексное изучение химического состава этого вида лука позволило нам впервые представить наиболее полную картину количественного содержания и компонентного состава важнейших классов БАВ, которые играют важную роль как естественные компоненты пищи, обладающие выраженным физиологическим и фармакологическим влиянием на организм и его основные регуляторные и метаболические процессы. Высокое содержание аскорбиновой кислоты, селена и хрома, а также наличие стероидных гликозидов, участвующих в антиоксидантной защите организма, позволяют ожидать, что препараты, полученные из данного вида лука, могут проявлять различную физиологическую активность и могут быть использованы для лечения и профилактики некоторых заболеваний.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовали растения *A. schoenoprasum* L. из коллекции Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Листья лука измельчали и сушили при комнатной температуре и постоянном вентилировании. Выделение нейтральных липидов (НЛ) и анализ их жирнокислотного состава (ЖК), экстракцию стероидных гликозидов, выделение и идентификацию индивидуальных веществ осуществляли методами, приведенными в табл. 1. Все анализы выполнены в экоаналитической лаборатории “Экоаналит” Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Анализ на содержание селена выполнен в НИИ питания РАМН (Москва).

Эксперимент по изучению противоопухолевого потенциала тестируемого вещества проводили на 40 мышатах-самцах BDF, массой 29–30 г, разводки питомни-

ка “Столбовая”. Всушенные и измельченные листья лука суспендировали в дистиллированной воде и в 8 % водном этаноле в соотношении 1:19, затем выдерживали в термостате в течение 2 ч при температуре 37 °С и фильтровали через металлическое сито. Перед введением мышам водный экстракт из лука дополнительно перемешивали и вводили каждому животному перорально в объеме 0,8 и 0,6 мл, а водно-спиртовый экстракт — в объеме 0,8 мл.

Штамм опухоли карциномы Эрлиха (КЭ) получали из банка Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина РАМН, использовали 3 – 4 пассажи опухоли *in vivo*. Исходной опухолью для штамма солидной КЭ служил спонтанный рак молочной железы. Мышей содержали в условиях вивария на брикетированном корме при свободном доступе к питьевой воде. Их разделили на 4 группы — по 10 животных в каждой: 1-я группа — мыши с перевитой КЭ — контроль; 2-я группа — мыши, получавшие перорально с частотой 5 раз в неделю на протяжении 2,5 недель до перевивки КЭ и после нее в течение всего опыта водный экстракт из листьев лука (ВЭЛ) в дозе 1,3 г/кг массы тела животного (м.т.ж.); 3-я группа — мыши, получавшие ВЭЛ по вышеуказанной схеме в дозе 1,0 г/кг м.т.ж.; 4-я группа — мыши, получавшие перорально по такой же схеме водно-спиртовый (8,0 %) экстракт из листьев лука (ВСЭЛ) в дозе 1,3 г/кг м.т.ж.

На протяжении всего опыта каждая мышь 2-й группы получила по 1360 мг, 3-й группы — 1020 мг, 4-й — 1360 мг вещества. Опухолевые клетки КЭ перевивали подкожно методом инокуляции в правую паховую область. Каждой мыши вводили по 10^6 клеток КЭ в 0,5 мл Хенкса. Ингибирующий эффект ВСЭЛ оценивали по торможению роста опухоли (ТРО), определяемому по объему и по массе опухолей у животных опытных групп по сравнению с контрольной группой (1 группа — КЭ).

$$\text{ТРО} = [(V_{\text{оп}} - V_{\text{к}})/V_{\text{к}}] \cdot 100 \%,$$

где $V_{\text{к}}$ — средний объем опухоли в контрольной группе, $V_{\text{оп}}$ — средний объем опухоли в опытной группе (мм^3).

Принимая во внимание, что опухоль имеет не чисто сферическую форму, а более напоминает эллипсоид, объем опухоли определяли по формуле для расчета объема эллипсоида:

$$V = A \cdot B \cdot C \cdot \pi/6,$$

где A, B, C — длины большой, средней и малой оси [14].

В конце эксперимента (на 52 сут) мышам усыпляли под эфирным наркозом. После вскрытия животных опухоли выделяли и определяли их массу.

Т а б л и ц а 1

Содержание биологически активных соединений и микронутриентов в листьях *A. schoenoprasum*

Класс соединений	Компонентный состав	Количественное содержание	Методы исследования	Ссылки на публикации	
Нейтральные липиды (% от сухого вещества)	Стерины (ситостерин, стигмастерин, кампестерин, холестерин) и их эфиры, свободные жирные кислоты и их эфиры, моно-, ди- и триацилглицерины	0,75 – 1,94	Тонкослойная хроматография, ВЭЖХ, хроматомасс-спектрометрия	[10]	
в том числе — высшие жирные кислоты (% от их общего количества)	линолевая (С18:2)	22,8 – 32,3	Газожидкостная хроматография	[10]	
	линоленовая (С18:3)	34,4 – 38,7			
	пальмитиновая (С16:0)	24,5 – 25,9			
Стероидные гликозиды (% от воздушно-сухой массы)	Спироаноловые (дельтонин, сапонин А)	1,42 – 2,49	ВЭЖХ, хроматомасс-спектрометрия	Результаты частично опубликованы в [11]	
	Фуростаноловые (дельтозид, протодиосцин)	1,33 – 2,14			
Витамины (мг/100 г влажно-го сырья)	Аскорбиновая кислота	81 ± 2	Титрование щелочным раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола	Результаты не опубликованы	
Макроэлементы (% от сухого вещества)	калий	1,40 – 4,00	Содержание металлов в кислоторастворимой форме определяли на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой “Spectro”	Результаты частично опубликованы в [12]	
	натрий	0,011 – 0,070			
	магний	0,12 – 0,18			
	кальций	0,55 – 1,49			
	фосфор	0,24 – 0,67			
	серы	0,4 – 1,44			
Микроэлементы (мг/кг сухого вещества)	железо	15 – 160	газовая хроматография атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно-связанной плазмой “Spectro”	[13]	
	марганец	14 – 220			
	хром	1,5 – 10,0			
	медь	2 – 7			
	цинк	10 – 38			
	никель	1,2 – 7,7			
	алюминий	36 – 140			
	селен	0,063 – 0,174			флуориметрический метод

Результаты и их обсуждение

Исследование химического состава лука *A. schoenoprasum* показало, что он является продуцентом целого ряда БАВ и микронутриентов (табл. 1). Листья шнитт-лука содержат от 0,75 до 1,94 % нейтральных липидов, основными компонентами которых являются стерины ($R_f = 0,18$) и их эфиры ($R_f = 0,8$), свободные жирные кислоты ($R_f = 0,36$) и их эфиры ($R_f = 0,48$), моно-, ди- и триацилглицерины ($R_f = 0,57$). Как показали наши исследования, стерины составляют существенную часть нейтральных липидов листьев *A. schoenoprasum*. Согласно данным, полученным методом ВЭЖХ, основным компонентом стеринов является ситостерин, структура которого подтверждена методом хромато-масс-спектрометрии (ХМС). Этим же методом обнаружены незначительные количества других стеринов — стигмастерин, кампестерин и холестерин. Ситостерин и стигмастерин — наиболее часто встречающиеся в растениях стерины. Фитостерины, в значительных количествах содержащиеся в овощах и фруктах, оказывают защитное действие при атеросклерозе и раке толстой кишки [15]. Жирнокислотный состав НЛ представлен молекулами кислот с цепями $C_{16} - C_{20}$ и четным числом углеродных атомов, основными по содержанию являются ненасыщенные высшие жирные кислоты — линолевая и линоленовая (табл. 1).

Особый интерес представляют стероидные гликозиды (СГ), обладающие антисклеротическими, антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами [16].

Шнитт-лук содержит довольно высокие концентрации таких важных микроэлементов, как цинк, медь, хром (табл. 1) [17 – 20].

Наши исследования показали, что листья шнитт-лука содержат от 111 до 121 мкг/кг Se (табл. 1). Значения

коэффициента биологического накопления селена составляют 0,9 – 1,1, что свидетельствует об аккумулирующих свойствах лука *A. schoenoprasum* по отношению к этому микроэлементу. Эти результаты позволяют предполагать, что шнитт-лук может внести свой вклад в антиканцерогенную защиту организма человека.

Результаты исследования по выявлению противоопухолевого потенциала ВЭЛ и ВСЭЛ в отношении перевиваемой КЭ у мышей BDF с 5 по 33 сут наблюдения за развитием опухоли после подкожной инокуляции опухолевых клеток приведены в табл. 2. При пероральном введении мышам ВСЭЛ показатель ТРО составлял от 10,2 до 38,4 %, но не был статистически достоверным. Что касается группы животных, которым вводили ВСЛ в дозе 1,0 г/кг м.т.ж., то с учетом показателей ТРО на всех контролируемых сроках и погрешности измерения объема опухоли можно отметить отсутствие потенцирующего эффекта ВСЛ в этой дозе на рост КЭ. Взвешивание опухолей у мышей на 35 сут после инокуляции опухолевых клеток выявило отсутствие (группа 2) или незначительное (3,3 и 8,6 % соответственно в группе 3 и 4) снижение этого показателя в сравнении с контролем (табл. 2).

Необходимо отметить, что в группах животных, которым вводили ВЭЛ, не было зарегистрировано гибели мышей, а в группе мышей, которым вводили ВСЭЛ (группа 4), погибло 1 животное, в то время как в контрольной группе (группа 1) погибли 2 мыши.

Обращает на себя внимание тот факт, что у мышей, которым вводили водный или водно-спиртовой экстракт листьев лука, наблюдали заживляющий эффект при изъязвлении опухолей, вызванных развитием некротических процессов.

Таблица 2
Влияние водных и водно-спиртовых экстрактов листьев *A. schoenoprasum* на рост подкожно перевитой карциномы Эрлиха (КЭ) у мышей-самцов BDF

Группа, действующее вещество (доза, г/кг м.т.ж.)	Объем опухоли, мм ³ , $M \pm SD$, (изменение объема, %)									Масса опухоли, г, 35 сут
	Сутки после перевивки опухоли									
	5	8	12	15	19	22	28	33		
1 (КЭ)	41,6 ± 18,1 <i>n</i> = 10	195,5 ± 88,7 <i>n</i> = 10	844,5 ± 419,4 <i>n</i> = 10	960,7 ± 538,7 <i>n</i> = 10	1189,6 ± 824,9 <i>n</i> = 10	1946,7 ± 1286,4 <i>n</i> = 9	2624,3 ± 937,2 <i>n</i> = 8	4258,8 ± 1405 <i>n</i> = 8		4,21 ± 1,81 <i>n</i> = 8
2 КЭ + ВЭЛ (1,3)	43,4 ± 21,2 <i>n</i> = 10 (- 4,3)	201,1 ± 172,6 <i>n</i> = 10 (+ 2,9)	577,7 ± 463,3 <i>n</i> = 10 (- 31,6)	592,2 ± 429,8 <i>n</i> = 10 (- 38,4)	878,9 ± 638,1 <i>n</i> = 10 (- 26,1)	1283,3 ± 957,8 <i>n</i> = 10 (- 34)	2230,8 ± 1048,3 <i>n</i> = 10 (- 15,0)	3869,6 ± 1391,9 <i>n</i> = 10 (- 9,1)		4,19 ± 1,40 <i>n</i> = 10
3 КЭ + ВЭЛ (1,0)	38,6 ± 13,6 <i>n</i> = 10 (- 7,2)	265,9 ± 301,2 <i>n</i> = 10 (+ 36,0)	964,4 ± 473,0 <i>n</i> = 10 (+ 14,2)	1161,1 ± 619,8 <i>n</i> = 10 (+ 20,9)	1284,9 ± 873,2 <i>n</i> = 10 (+ 8,0)	1683,6 ± 1103 <i>n</i> = 10 (- 13,5)	2284,6 ± 870,7 <i>n</i> = 10 (- 13,0)	3470,2 ± 969,5 <i>n</i> = 10 (- 18,5)		4,07 ± 1,15 <i>n</i> = 10 (- 3,3)
4 КЭ + ВСЭЛ (1,3)	30,4 ± 11,6 <i>n</i> = 10 (- 26,9)	282,2 ± 183,9 <i>n</i> = 10 (+ 44,4)	584,7 ± 166,6 <i>n</i> = 9 (- 30,8)	592,2 ± 429,9 <i>n</i> = 9 (- 38,4)	1068 ± 455,5 <i>n</i> = 9 (- 10,2)	1332,9 ± 658,3 <i>n</i> = 9 (- 31,5)	1892,2 ± 727,8 <i>n</i> = 9 (- 27,9)	3203,8 ± 1431,9 <i>n</i> = 9 (- 24,8)		3,85 ± 1,13 <i>n</i> = 9 (- 8,6)

Примечание. Результаты выражены как среднеарифметические значения ± стандартные отклонения (SD). В скобках приведены значения в % потенцирования (+) или ингибирования (-) роста опухоли.

С учетом существующих требований, предъявляемых к веществам природного происхождения при оценке их противоопухолевой активности, показатель торможения роста опухоли под воздействием тестируемого вещества должен быть $> 50,0\%$ ($p < 0,05$) [14]. В нашем случае водный или водно-спиртовой экстракт из лука проявил более слабую ингибирующую активность по отношению к КЭ, которая не была подтверждена статистически. В то же время среднеарифметические значения объема опухолей на сроках от 12 и до 33 сут роста КЭ у мышей, получавших максимальную дозу экстракта лука, были устойчиво ниже.

Таким образом, водный и водно-спиртовой экстракты из лука проявляют тенденцию к ингибированию роста подкожно перевиваемой карциномы Эрлиха у мышей-самцов BDF на стадии ее интенсивного развития. Авторы предполагают, что проведение эксперимента с использованием обогащенных стероидными гликозидами экстрактов лука позволят усилить и пролонгировать эффект их противоопухолевой защиты.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований УрО РАН “Аккумуляционные свойства некоторых представителей рода *Allium* L. по отношению к селену и создание на их основе фармакологических композиций антиоксидантного и противоопухолевого действия”, проект № 12-У-4-1016.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. И. Дейнеко, *Раст. ресурсы*, **21**(2), 221 – 229 (1985).
2. Е. Лютомски, *Новости фармации и медицины*, № 4, 193 – 202 (1980).

3. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Т. 2, Медицина, Москва (1984).
4. С. Galeone, С. Pelucchi, L. Dal Maso, et al., *Public Health Nutr.*, **12**(9), 1576 – 1579 (2009).
5. К. Lazarevic, А. Nagorni, N. Rancic, et al., *J. Buon.*, **15**(1), 89 – 93 (2010).
6. S. Tache, А. Ladam, D. E. Corpet, *Eur. J. Cancer.*, **43**(2), 454 – 458 (2007).
7. E. Viry, А. Anwar, G. Kirsch, et al., *Int. J. Oncol.*, **38**(4), 1103 – 1111 (2011).
8. D. Stajner, N. Milic, J. Canadanovic-Brunet, et al., *Phytother. Res.*, **20**(7), 581 – 584 (2006).
9. А. И. Толмачев (ред.), *Флора северо-востока европейской части СССР*, Т. 2, Наука, Ленинград (1976), сс. 112 – 114.
10. Т. И. Ширшова, И. В. Бешлей, И. В. Груздев, *Раст. ресурсы*, **44**(1) 75 – 81 (2008).
11. Т. И. Ширшова, Г. А. Волкова, *Раст. ресурсы*, **42**(3), 59 – 66 (2006).
12. Т. И. Ширшова, И. В. Бешлей, *Раст. ресурсы*, **45**(2), 97 – 105 (2009).
13. Т. И. Ширшова, И. В. Бешлей, Н. В. Матистов и др., *Раст. ресурсы*, **47**(1), 112 – 118 (2011).
14. Е. М. Трещалина, О. С. Жукова, Г. К. Герасимова и др., *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005), сс. 637 – 651.
15. Н. А. Голубкина, С. М. Сирота, В. Ф. Пивоваров и др., *Биологически активные соединения овощей*, ВНИИССОК, Москва (2010).
16. И. С. Васильева, В. А. Пасешниченко, *Успехи биол. химии*, **40**, 153 – 204 (2000).
17. А. В. Шабров, В. А. Дадали, В. Г. Макаров, *Биохимические основы действия микрокомпонентов пищи*, Аввалон, Москва (2003), сс. 99 – 135.
18. В. Р. Yu, *Physiol. Rev.*, **74**, 139 – 162, (1994).
19. С. Ip, *J. Nutrition.*, **128**(11), 1845 – 1854 (1998).
20. P. R. Harrison, J. Lanfear, L. Wu, et al., *Proceedings of the 6th Int. Symposium on Selenium in Biology and Medicine*, Van Nostrand Reinhold, New York (1996), pp. 74 – 82.

Поступила 01.06.11

CHEMICAL COMPOSITION OF *ALLIUM SCHOENOPRASUM* LEAVES AND THE INHIBITORY EFFECT OF THEIR EXTRACT ON TUMOR GROWTH IN MICE

T. I. Shirshova¹, I. V. Beshlei¹, V. P. Deryagina², N. I. Ryzhova², and N. V. Matistov¹

Institute of Biology, Komi Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia;

Research Institute of Carcinogenesis, Blokhin Russian Oncological Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 115478 Russia

Complex chemical study of a cultivated plant *Allium schoenoprasum* L. from collection of the Botanical Garden of the Institute of Biology (Komi Scientific Center) showed that its leaves contain a wide range of biologically active substances and micronutrients involved in the antioxidant and anticarcinogenic protection system of humans. Experiment for evaluation of the antitumor potential of these substances showed that the aqueous and aqueous alcohol extracts of onion tend to inhibit the growth of subcutaneously transplanted Ehrlich carcinoma in male BDF mice at the stage of intense tumor development.

Key words: *A. schoenoprasum* L.; extract; anticarcinogenic effect