

Е. Н. Амосова*, И. В. Шилова, Е. П. Зуева, О. Ю. Рыбалкина

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM. НА РАЗВИТИЕ У МЫШЕЙ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е. Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Россия, 634028, Томск, пр. Ленина, 3; * e-mail: nii@pharmso.ru

Экстракт получен из надземной части лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на 70 % этаноле методом экстракции с использованием нагревания. Результаты экспериментов на мышцах линии C57Bl/6 с карциномой легких Льюис (LLC) показали, что экстракт лабазника вязолистного в дозах 50 и 100 мг/кг оказывает антиметастатическое действие, причем его эффективность возрастает с увеличением дозы. При сочетанном введении животным с LLC циклофосфана и экстракта лабазника в дозах 50 и 100 мг/кг обнаружено повышение антибластомного действия цитостатика.

Ключевые слова: экстракт *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.; карцинома легких Льюис; цитостатическая терапия.

Лабазник вязолистный *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. — многолетнее травянистое растение (семейство Rosaceae) высотой до 150 см, распространен в лесной и лесостепной зонах и в горно-лесном поясе повсеместно [1]. В народной медицине его используют как противовоспалительное, ранозаживляющее, антиспастическое, вяжущее, гемостатическое, сосудукрепляющее, антимикробное и общеукрепляющее средство [2]. Существуют данные о том, что траву и корневища растения применяют для лечения злокачественных новообразований [3]. В официальной медицине используют цветки лабазника, которые являются фармакопейным сырьём (ВФС 42-1777-87) и разрешены для лечения воспалительно-деструктивных заболеваний кожи и слизистых [2].

Химический состав лабазника вязолистного к настоящему времени хорошо изучен. В надземной части растения обнаружены фенольные (простые фенолы, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, кумарины, дубильные вещества) и тритерпеноидные соединения, а также стеринны, полисахариды, каротиноиды, аминокислоты, эфирное масло и неорганические компоненты [1–3]. Разнообразный набор биологически активных веществ (БАВ), содержащихся в лабазнике, и данные народной медицины о лечебных свойствах привлекают к нему внимание исследователей как к источнику для получения новых высокоэффективных препаратов. В исследованиях используют разные части растения (цветки, надземную часть, корни) и различные способы извлечения БАВ.

На моделях опухолей, спонтанных и индуцированных химическими канцерогенами или ионизирующей радиацией, доказано антиканцерогенное действие отвара из цветков лабазника вязолистного [4–6]. В экспериментах *in vitro* обнаружено, что экстракт из цветков лабазника ингибирует рост опухолевых клеток человека (NCI-H460 — карцинома легких, A375-C5 — меланома, MCF-7 — аденокарцинома молочной железы), но не влияет на процесс апоптоза [7]. При этом в

клетках возрастает уровень белка p21, который, как известно, ингибирует клеточный цикл в фазе G1 и вызывает остановку пролиферации [8, 9].

Целью настоящей работы явилась оценка влияния экстракта из надземной части лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на развитие карциномы легких Льюис у мышей и эффективность цитостатической терапии.

Экспериментальная часть

Надземную часть лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. собирали в июле 2016 г. в фазу цветения в окрестностях дер. Ольговка Томского района Томской области. Высушенное воздушным способом сырьё измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 1–2 мм, влажность ($9,1 \pm 0,03$) %. Экстракт получали обработкой измельченной надземной части растения 70 % этанолом трижды на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин при температуре 90 °С и соотношении сырьё — экстрагент 1:18. Полученные извлечения объединяли, фильтровали и упаривали в вакууме при температуре не выше 50 °С досуха. Экстракт (выход 38,8 %) содержит ($4,21 \pm 0,04$) % флавоноидов [10] в пересчете на кверцетин.

Эксперименты выполнены на 153 мышцах-самках линии C57Bl/6, полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ имени Е. Д. Гольдберга (сертификат качества № 18805). Все процедуры (содержание, введение исследуемых веществ, умерщвление) проведены в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях [11]. Карциному легких Льюис (LLC) переливали внутримышечно ($4 \div 5$) · 10⁶ клеток в 0,1 мл физиологического раствора по общепринятым методам [12].

Экстракт лабазника вводили зондом в желудок в дозах 25, 50 и 100 мг/кг, продолжительность курса указа-

на в табл. 1, 2. При оценке изолированного влияния экстракта лабазника вязолистного на LLC лечение мышшей начинали в разные сроки после трансплантации опухоли: через 24 ч после перевивки в 1 серии экспериментов и с 7 сут — во 2 серии опытов.

При проведении цитостатической терапии использовали циклофосфан (ЦФ) (ООО “Биохимик”, Саранск, Россия), который вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 125 мг/кг мышам на 10 (3 серия) или 11 сут (4 серия) после перевивки опухоли. Применение экстракта лабазника у мышшей начинали на 7 сут после перевивки опухоли.

Эффективность лечебных воздействий оценивали на 17 сут (1 серия), 20 (2 и 4 серия) и 21 сут (3 серия) эксперимента, при этом определяли массу опухоли, процент торможения её роста (ТРО), количество метастазов в легких и их площадь, частоту метастазирования в процентах к контролю, индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) [12 – 14]. Обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона — Манна — Уитни (U) и углового преобразования Фишера (ϕ) [14, 15].

Результаты и их обсуждение

Курсовое введение экстракта лабазника в дозах 25, 50 и 100 мг/кг (1 серия) не влияло на рост основного опухолевого узла (табл. 1). Экстракт в дозах 50 и 100 мг/кг оказывал антиметастатическое действие, причем его эффективность повышалась с увеличением дозы. Так, использование дозы 50 мг/кг приводило к достоверному уменьшению площади метастазов в 1,5 раза, а при применении экстракта в дозе 100 мг/кг достоверно снизилось и количество метастатических узлов в легких (в 1,3 раза), и их площадь (в 1,7 раза) (табл. 1).

Аналогичные результаты получены и во 2 серии опытов. Экстракт лабазника подавлял развитие метастатического процесса, а масса опухоли у получавших экстракт мышшей не отличалась от значений этого пока-

зателя в группе контроля. Под влиянием экстракта уменьшалось количество метастазов ($p < 0,05$) и площадь метастатического поражения (табл. 1).

На следующем этапе исследований в 3 и 4 сериях экспериментов на мышах с карциномой легких Льюис оценивали действие экстракта лабазника на эффективность цитостатической терапии. Однократное введение животным ЦФ (3 серия) приводило к достоверному уменьшению массы опухоли в 1,3 раза, частота метастазирования, количество метастазов снизилось в 3,9 раза, их площадь оказалась значительно меньше контрольных значений ($p < 0,01$), ИИМ составил 78,7 % (табл. 2).

При сочетанном использовании ЦФ и экстракта лабазника (3 серия) отмечено повышение антибластомной активности цитостатика. Так, в группе мышшей, которые получали ЦФ и экстракт в дозе 50 мг/кг, достоверно меньше оказалась масса опухолевого узла, ТРО составило 47 % против 25 % у животных, леченных только ЦФ (табл. 2). При этом отмечена тенденция к снижению как количества (в 1,8 раза), так и площади метастазов (в 3,9 раза). При использовании в комплексной терапии с ЦФ экстракта лабазника в дозе 100 мг/кг достоверного изменения эффективности ЦФ в отношении первичного опухолевого узла не обнаружено (табл. 2). В группе мышшей, которым вводили ЦФ и экстракт лабазника в дозе 100 мг/кг, все показатели, свидетельствующие о тяжести метастатического поражения, имели минимальные значения, ИИМ составил 94,6 %. В этой группе у 58 % мышшей обнаружены метастазы, против 82 % у животных, получавших ЦФ, количество метастазов и их площадь снизились в 2,8 и 8,0 раза соответственно.

В 4 серии экспериментов экстракт лабазника в дозе 50 мг/кг при включении его в схему лечения увеличивал антибластомное и антиметастатическое действие ЦФ, все оцениваемые показатели оказались достоверно ниже по сравнению с группой ЦФ. Так, ТРО составило 37 %, ИИМ — 91,5 % против 24 % (ТРО) и 50,0 % (ИИМ) в группе, которой вводили только ЦФ

Таблица 1
Влияние экстракта лабазника вязолистного (ЛВ) на развитие карциномы легких Льюис у мышшей-самок линии C57BL/6

Группа наблюдения, режим введения препаратов (количество животных)	Масса опухоли ($\bar{X} \pm m$), г	ТРО, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов ($\bar{X} \pm m$)	Площадь метастазов ($\bar{X} \pm m$), мм ²	ИИМ, %
1 серия						
1. Контроль (10)	5,1 ± 0,2		100	12,4 ± 0,9	13,32 ± 2,06	
2. Экстракт ЛВ, 25 мг/кг × 13 (10)	5,2 ± 0,2	–2	100	13,6 ± 1,9	12,51 ± 1,84	–9,7
3. Экстракт ЛВ, 50 мг/кг × 13 (10)	4,9 ± 0,2	4	100	11,5 ± 1,0	8,75 ± 2,03 ^{1–3} $p < 0,05$	7,3
4. Экстракт ЛВ, 100 мг/кг × 13 (10)	5,4 ± 0,2	–6	100	9,7 ± 1,1 ^{1–4} $p < 0,05$	7,87 ± 1,81 ^{1–4} $p < 0,05$	21,8
2 серия						
1. Контроль, (8)	8,1 ± 0,4		100	10,6 ± 1,3	8,68 ± 1,57	
2. Экстракт ЛВ, 50 мг/кг × 11 (11)	7,7 ± 0,1	5	100	7,6 ± 1,5 ^{1–2} $p < 0,05$	4,77 ± 1,62 ^{1–2} $p < 0,05$	28,3
3. Экстракт ЛВ, 100 мг/кг × 11 (10)	6,8 ± 0,3	16	100	7,5 ± 0,6 ^{1–3} $p < 0,05$	5,23 ± 0,85	29,2

Примечание: здесь и в табл. 2 перед уровнем значимости p указаны номера сравниваемых групп.

(табл. 2). При сочетанном применении с ЦФ экстракта в дозе 100 мг/кг отмечено достоверное снижение площади метастазов в 4,3 раза по сравнению с показателем у получавших ЦФ мышей (табл. 2).

Таким образом, проведенные исследования показали, что при изолированном введении экстракт лабазника вязолистного в дозах 50 и 100 мг/кг ингибирует развитие метастазов у мышей с карциномой легких Льюис, а при использовании его совместно с ЦФ повышает антибластомную активность цитостатика.

В составе экстракта лабазника вязолистного, используемого в настоящем исследовании, при химическом анализе обнаружены флавоноиды (кверцетин, кемпферол, изокверцитин, 4'-гликозид кверцетина, авикулярин, рутин), кумарины (эскулетин), простые фенолы, органические кислоты (бензойная, салициловая, м-гидроксибензойная, анисовая, ванилиновая, гентизиновая, галловая и её этиловый эфир, *n*-кумаровая, кофейная, хлорогеновая, феруловая и др.), тритерпеновые соединения (урсоловая и олеаноловая кислоты), дубильные вещества гидролизуемой группы, стерины, полисахариды водорастворимые, эфирное масло, каротиноиды, амины, аминокислоты (валин, глутаминовая кислота, гистидин) и неорганические компоненты [16].

В настоящее время широко исследуется влияние флавоноидов на канцерогенез и опухолевый рост. Известно, что соединения этой группы обладают антипролиферативным действием, индуцируют апоптоз [17–20], являются ингибиторами клеточной инвазии и метастазирования, воздействуют на ангиогенез [21]. Изучается возможность применения флавоноидов для лечения больных с опухолями. Так, проходят клинические испытания кверцетин [17, 20, 22], куркумин, эпигаллокатехин, генистеин [23–25], препарат, содержащий апигенин и эпигаллокатехин [20], и приводятся данные о разных фазах клинических исследований и

возможности применения этих веществ для лечения опухолей различных локализаций. Флавоноиды являются важной частью пищевого рациона, существуют эпидемиологические данные о том, что наличие их в пище препятствует развитию рака простаты, колоректального рака, рака яичников [23, 26, 27].

Вероятно, антибластомная активность лабазника вязолистного и обнаруженное у экстракта свойство увеличивать противоопухолевое действие цитостатика обусловлено наличием в его составе разнообразных флавоноидов.

Противоопухолевые препараты, как известно, оказывают токсическое действие на гемопоэз, вызывают иммуносупрессию, в результате чего повышается риск развития инфекционных заболеваний (грибковых, бактериальных, вирусных, паразитарных). Серьезными осложнениями при цитостатической терапии являются нарушения в функционировании желудочно-кишечного тракта, печени, почек. При проведении химиотерапевтического лечения больных с опухолями широко используется сопроводительная терапия, направленная на ослабление побочного действия цитостатиков и улучшение качества жизни пациентов. Как свидетельствуют данные литературы, экстракты лабазника вязолистного обладают обширным спектром фармакологической активности и могут использоваться не только для повышения эффективности антибластомного лечения, но и как средство сопроводительной терапии. Как показали исследования [28], экстракты из наземной части и из корней лабазника вязолистного снижают повреждающее действие цисплатина на почки и печень крыс. Биохимические и гистологические исследования позволили авторам сделать заключение о том, что в патогенезе цисплатин-индуцированной токсичности важную роль играет окислительный стресс, а экстракты лабазника усиливают антиоксидантный статус и уменьшают повреждающее действие цитостати-

Таблица 2
Влияние экстракта лабазника вязолистного (ЛВ) на эффективность цитостатического лечения карциномы легких Льюис у мышей-самок линии C57BL/6

Группа наблюдения, режим введения препаратов (количество животных)	Масса опухоли ($X \pm m$), г	ТРО, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов ($X \pm m$)	Площадь метастазов ($X \pm m$), мм ²	ИИМ, %
3 серия						
1. Контроль (10)	6,20 ± 0,62	–	100	21,6 ± 1,8	27,02 ± 5,59	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (11)	4,64 ± 0,59 ¹⁻² <i>p</i> < 0,01	25	82 ¹⁻² <i>p</i> < 0,05	5,6 ± 1,7 ¹⁻² <i>p</i> < 0,01	1,12 ± 0,69 ¹⁻² <i>p</i> < 0,01	78,7
3. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + экстракт ЛВ, 50 мг/кг × 11 (10)	3,27 ± 0,57 ²⁻³ <i>p</i> < 0,05	47	70	3,2 ± 0,7	0,29 ± 0,10	89,6
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + экстракт ЛВ, 100 мг/кг × 11 (12)	4,63 ± 0,67	25	58	2,0 ± 0,7	0,14 ± 0,05 ²⁻⁴ <i>p</i> < 0,05	94,6
4 серия						
1. Контроль (8)	8,06 ± 0,38	–	100	10,6 ± 1,3	8,68 ± 1,57	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (11)	6,15 ± 0,35 ¹⁻² <i>p</i> < 0,01	24	100	5,3 ± 0,9 ¹⁻² <i>p</i> < 0,01	2,15 ± 0,69 ¹⁻² <i>p</i> < 0,01	50,0
3. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + ЛВ, 50 мг/кг × 11 (11)	5,08 ± 0,25 ²⁻³ <i>p</i> < 0,05	37	64 ²⁻³ <i>p</i> < 0,01	1,4 ± 0,4 ²⁻³ <i>p</i> < 0,05	0,16 ± 0,09 ²⁻³ <i>p</i> < 0,01	91,5
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + ЛВ, 100 мг/кг × 11 (11)	5,37 ± 0,26	33	91	3,5 ± 0,6	0,50 ± 0,17 ²⁻⁴ <i>p</i> < 0,05	69,9

ка на печень и почки [28]. Водный и водно-этанольные экстракты из надземной части лабазника вязолистного у мышей, иммунизированных тимусзависимым антигеном, стимулируют клеточный и гуморальный ответ при иммуносупрессии, вызванной введением ЦФ [29]. На модели токсического гепатита, индуцированного у крыс введением тетрахлорметана, доказано наличие гепатопротекторной и антиоксидантной активности у водного и водно-этанольных экстрактов из надземной части лабазника вязолистного [30]. Экстракт из надземной части лабазника вязолистного обладает обезболивающим и противовоспалительным действием и ингибирует активность ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [31, 32]. Обнаружено, что экстракт из цветков этого растения обладает антигипералгическими и противовоспалительными свойствами [31]. Кроме того, следует отметить, что у экстрактов лабазника вязолистного обнаружены противомикробная [33] и антифунгальная [16] активность.

Проведенные исследования и анализ данных литературы доказывают перспективность дальнейшего изучения возможности использования экстрактов из надземной части *F. ulmaria* в комплексной терапии онкологических больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Г. Минаева, *Лекарственные растения Сибири*, Наука, Новосибирск (1991).
2. И. В. Шилова, Н. И. Суслов, И. А. Самылина, *Химический состав и ноотропная активность растений Сибири*, Изд-во Томского ун-та, Томск (2010).
3. В. В. Телятьев, *Полезные растения Центральной Сибири*, Восточно-Сибирское книжное изд-во, Иркутск (1987).
4. В. Г. Беспалов, В. А. Александров, А. С. Петров, *Вопросы онкол.*, **51**(1), 7 – 8 (2005).
5. В. Н. Анисимов, М. А. Забежинский, И. Г. Попович и др., *Вопросы онкол.*, **58**(1), 7 – 18 (2012).
6. V. G. Bespalov, V. A. Alexandrov, G. I. Vysochina, et al., *J. Neurooncol.*, **131**(3), 459 – 467 (2017).
7. M. J. Lima, D. Sousa, R. T. Lima, et al., *Ind. Crop. Prod.*, **59**, 149 – 153 (2014).
8. C. Fischer, H. Sanchez-Ruderisch, M. Welzel, et al., *J. Biol. Chem.*, **280**(44), 37266 – 37277 (2005).
9. П. М. Кондратовский, А. И. Дубиков, А. Ю. Дорошевская, *Онкогематология*, № 3, 65 – 75 (2011).
10. I. V. Shilova, T. G. Khoruzhaya, I. A. Samylyna, *Pharm. Chem. J.*, **49**(5) 329 – 333 (2015).
11. Директива 2010 / 63 / EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых

- в научных целях, Санкт-Петербург (2012); http://www.bio.msu.ru/res/DOC365/Dir_2010_63_Rus-LASA.pdf.
12. З. П. Софьина, А. Б. Сыркин, А. Голдин, А. Кляйн, *Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США*, Медицина, Москва (1980).
 13. С. А. Архипов, В. М. Юнкер, Е. В. Грунтенко, *Исследования по индукции и метастазированию опухолей у экспериментальных животных*, Новосибирск (1984).
 14. В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева, Е. И. Маевский, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств*, Медицина, Москва (2005).
 15. С. Гланц, *Медико-биологическая статистика*, Практика, Москва (1999).
 16. И. В. Шилова, И. А. Самылина, Н. И. Суслов, *Разработка ноотропных средств на основе растений Сибири*, Печатная мануфактура, Томск (2013).
 17. D. W. Lamson, M. S. Brignal, *Altern. Med. Rev.*, **5**(3), 196 – 208 (2000).
 18. Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов, Е. Н. Музафаров, *Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина*, Synchrobook, Пущино (2013).
 19. B. Romano, E. Pagano, V. Montanaro, et al., *Phytother. Res.*, **27**(11), 1588 – 1596 (2013).
 20. А. М. Щербаков, О. Е. Андреева, *Acta Naturae*, **7**(3, 26), 149 – 155 (2015).
 21. C.-J. Weng, G.-C. Yen, *Cancer Metastasis Rev.*, № 31, 323 – 351 (2012).
 22. D. R. Ferry, A. Smith, J. Malkhandi, et al., *Clin. Cancer Res.*, **2**(4), 659 – 668 (1996).
 23. M. N. Alam, M. Almoyad, and F. Huq, *BioMed Res. Int.*, 2018, Article ID 4154185; <https://doi.org/10.1155/2018/4154185>.
 24. B. Uzzan and R. Benamouzig, *Cur. Colorectal Cancer Reports*, **12**(1), 35 – 41 (2016).
 25. K. R. Patel, E. Scott, V. A. Brown, et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1215**(1), 161 – 169 (2011).
 26. F. Yang, L. Song, H. Wang, et al., *Oncol. Rep.*, **33**(6), 2659 – 2668 (2015).
 27. R. Kujawski, J. Baraniak, M. Ozarowski, et al., *Altern. Integr. Med.*, **6**(2), (2017); <https://doi.org/10.4172/2327-5162.1000238>.
 28. J. Katanić, S. Matić, E.-M. Pferschy-Wenzig, et al., *Food Chem. Toxicol.*, **99**, 86 – 102 (2017).
 29. Патент РФ 2246962; *Бюл. изобрет.*, № 6 (2005).
 30. I. V. Shilova, T. V. Zhavoronok, N. I. Suslov, et al., *Bul. Exper. Biol. Med.*, **142**(2), 216 – 218 (2006).
 31. S. Samardžić, M. Tomićb, U. Pecikozab, et al., *J. Ethnopharmacol.*, **193**(4), 652 – 656 (2016).
 32. J. Katanić, T. Borojaa, V. Mihailovića, et al., *J. Ethnopharmacol.*, **193**(4), 627 – 636 (2016).
 33. J. Katanić, T. Boroja, N. Stanković, et al., *Food Funct.*, **6**(4), 1164 – 1175 (2015).

Поступила 11.05.18

INFLUENCE OF *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM. EXTRACT ON THE DEVELOPMENT OF LEWIS LUNG CARCINOMA AND THE EFFECTIVENESS OF RELATED CYTOSTATIC THERAPY IN MICE

E. N. Amosova, I. V. Shilova, E. P. Zueva, and O. Y. Rybalkina

E. D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 634028 Russia; e-mail: nii@pharmso.ru

Meadowsweet extract was obtained from the aerial parts of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. plants under heating in 70% aqueous ethanol. Results of experiments on C57Bl/6 line mice with Lewis lung carcinoma (LLC) showed that the obtained extract in doses of 50 and 100 mg/kg produced an antimetastatic action and its effectiveness increased with the dose. Combined treatment of animals with LLC using cyclophosphamide and meadowsweet extract in doses of 50 and 100 mg/kg showed evidence of increased anti-blastoma effect of the cytostatic drug.

Keywords: *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.; meadowsweet extract; Lewis lung carcinoma; cytostatic therapy; combined therapy.