

УДК 575.224.46.044

СРАВНЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ НАДЗЕМНЫХ ЧАСТЕЙ *RANUNCULUS ACRIS* (L.) С ПРИМЕНЕНИЕМ АЛЛИУМ-ТЕСТА

© А.А. Койгерова*, М.В. Смирнова, А.А. Смирнов, Н.С. Цветов

ФИЦ Кольский научный центр РАН, ул. Ферсмана, 14, Апатиты, 184209,
Россия, a.kougerova@ksc.ru

Лютик едкий *Ranunculus acris* (L.) является распространенным растением, обладающим ядовитыми свойствами и используемым в народной медицине. Применение лекарственных средств растительного происхождения требует изучения химического состава, токсичности и генотоксичности. Целью исследования было сравнить токсическое и генотоксическое действие водных растворов органов *R. acris* с участков ботанического сада в Апатитах и Кировске в концентрациях 0.625, 1.25, 2.5, 5 и 10% с использованием Аллиум-теста. Объектами исследования являлись 6 образцов различных надземных органов *R. acris*, заготовленных в летний период времени в двух различных местах произрастания и культивирования. Изучение химического состава проводилось с использованием стандартных методик по определению биологически активных веществ (БАВ) в тканях растений. Аллиум-тест был проведен на луке сорта Штутгартен Ризен.

В растворах листьев *R. acris* с участка в Кировске чаще встречались хромосомные aberrации.

Растворы листьев *R. acris*, собранные с участка в Кировске, проявляли больший митодепрессивный и генотоксический эффект по сравнению с растворами листьев, собранных с участка в Апатитах, в растворах цветков и стеблей *R. acris*, собранных с обоих участков, такой зависимости отмечено не было.

Ключевые слова: *Allium cepa*, водный экстракт, *Ranunculus acris*, генотоксичность, aberrации, флавоноиды, экстремальные условия, Арктика.

Для цитирования: Койгерова А.А., Смирнова М.В., Смирнов А.А., Цветов Н.С. Сравнение химического состава и оценка генотоксичности водных извлечений из надземных частей *Ranunculus acris* (L.) с применением Аллиум-теста // Химия растительного сырья. 2024. №3. С. 231–241. DOI: 10.14258/jcprm.20240313815.

Введение

Исследование видового состава дикорастущей флоры, виды которой находят свое применение в народной медицине, становится одним из важнейших направлений выявления потенциала лекарственных растений. Изучение фитохимического и биохимического разнообразия растений позволяет оценить их перспективность как продуцентов биологически активных соединений, а также дополняет сведения об их систематике [1].

В настоящее время значительно возрастает интерес ученых к растительным сообществам, произрастающим в экстремальных климатических условиях. Живые объекты, обитающие на этих территориях, способны обладать рядом уникальных свойств, в том числе накапливают большее количество биологически активных соединений [2, 3]. Особенно актуальное значение все больше и больше приобретает изучение фармацевтического потенциала растений Арктики и Субарктики. [4, 5]. Достаточно крупным и значимым для фармацевтики и фитохимии семейством является семейство лютиковых (*Ranunculaceae*) [6]. Оно включает в себя около 50 родов и свыше 2000 видов, представленных преимущественно в умеренных и холодных областях земного шара. Они широко распространены по всем континентам, особенно в северной внетропической зоне. Наиболее богато родами и видами Лютиковых гюларктическое царство. В его пределах только в Восточно-Азиатской флористической области сосредоточены две трети всех родов (36 родов, из которых 11 – только в этой области), а 28 родов встречаются в циркумбореальной флористической области. В Арк-

* Автор, с которым следует вести переписку.

тике число родов и видов не так многочисленно, но они составляют важный элемент флоры. Фитохимический состав видов этого семейства разнообразен и весьма перспективен и делает их источниками фармацевтического сырья [7].

Растение также содержит алкалоиды, особенно их много в стеблях и листьях. Кроме того, в свежей траве найдены флавоноиды (кемпферол, кверцетин), сапонины, дубильные вещества, витамин С, каротин. В плодах содержится жирное масло, а в цветках – каротиноиды (флавоксантин, альфа-каротин-эпоксид, хризантемаксантин, тараксантин) [8].

Растения являются ценными источниками полезных веществ для медицинского применения [9], а экстракты растений состоят из сложных смесей веществ, которые могут действовать на процессы в живых организмах [10], что требует оценки их влияния и активности на тест-системах, в том числе растительных [11]. Растения, наиболее часто используемые в таких анализах, включают фасоль (*Vicia faba* L.), лук (*Allium cepa* L.), кукурузу (*Zea mays* L.) и т.д. Аллиум-тест – это краткосрочный тест на модели *A. cepa*, обладающей многими преимуществами: низкая стоимость, простота в обращении, хорошее состояние хромосом для изучения повреждения хромосом или нарушения клеточного деления. Этот тест широко используется для выявления цитостатических, цитотоксических и мутагенных свойств различных соединений. Цитотоксичность оценивается по показателю митотического индекса, а воздействие токсикантов можно наблюдать на уровне хромосом посредством изменений в структуре хромосом (хромосомные aberrации) [12, 13].

Цель исследования – сравнение токсичности и генотоксичности растворов листьев, цветков и стеблей *R. acris*, собранных с площадок ботанического сада Апатиты и Кировск с помощью Аллиум-теста, а также изучение суммарного количества флавоноидов, полифенольных кислот, антиоксидантной и антирадикальной активности.

Экспериментальная часть

Сбор растительного материала. Растительный материал был собран на территории двух площадок ботанического сада-института Кольского научного центра Российской академии наук: первая площадка – в районе Апатитов (67°34'N 33°24' E), а вторая – в районе Кировска (67°36'N 33°40'E). Территории находятся на незначительном расстоянии друг от друга (24 км), однако отличаются климатическими условиями. Первая площадка расположена на предгорной равнине, высота 140 м над уровнем моря в лесополосе Полярного Альпийского Ботанического сада-института. Вторая находится на высоте 340 м над уровнем моря, в Хибинских горах. Эти территории находятся за Полярным кругом, в центре Кольского полуострова, в северной атлантико-арктической климатической области умеренного климата [14]. Дата сбора растений: 7 июня 2022 года. Фенологическая фаза: цветение. Растительный материал был собран согласно правилам идентификации фармакопейных видов сотрудниками ботанического сада [15]. После сбора растительный материал был рассортирован по различным частям: листьям, стеблям и цветкам. Для подготовки растительного материала к экстракции его дополнительно измельчили с помощью электрической мясорубки и просеивали через сито ($d = 1$ мм), а затем подвергали дальнейшей сушке при температуре 45 °С до тех пор, пока он не достигал постоянного веса. После сушки растительный материал хранили не более 7 дней перед процессом экстракции.

Экстракция. Экстракция проводилась с использованием следующего оборудования: ультразвуковая ванна VILITEK VBS-3D (Москва, Россия, 2020 г.). Параметры для экстракции были предварительно подобраны в ходе оптимизационной работы с растительным сырьем (температура – 45 °С, время – 60 мин, мощность – 120 Вт, частота – 40 кГц). Для получения экстракта использовалась деионизированная вода качества Millipore. Взвешенные на аналитических весах порции растительного сырья смешивали с растворителем в соотношении 1 : 10 (масса : объем). Полученную после экстракции суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об./мин в центрифуге ELMi Multi SM-6 (Рига, Латвия, 2005). Следующим этапом работы было разбавление методом бинарного разведения в концентрациях 10, 5, 2.5, 1.25, 0.6125% для непосредственного проведения Аллиум-теста.

Общее содержание флавоноидов. Общее содержание флавоноидов (Total flavonoid content, TFC) определяли согласно известной методике с усовершенствованной модификацией [16]. После этого проводилось измерение оптической плотности (A) раствора при длине волны 420 нм с помощью фотоколориметра КФК-3-01 (ЗОМЗ, Сергиев Посад, Россия, 2010).

Общее содержание фенольных компонентов. Общее содержание фенольных компонентов (Total phenolic content, TPC) определялось с помощью реакции с реактивом Фолина-Чокалтеу с доработками [17].

Общая антиоксидантная активность. Общую антиоксидантную активность (Total antioxidant activity (TAC)) определяли с использованием фосфомолибдантного метода [18].

Антирадикальная активность. Антирадикальную активность (Free radical scavenging (FRS)) определяли с помощью реакции со свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) [19].

Аллиум-тест. Луковицы лука репчатого (*Allium cepa*, 2n=16) сорта Штутгартен Ризен перед экспериментом были выдержаны в темном прохладном месте 14 дней, затем отобраны по сходному диаметру, осмотрены и очищены от старых чешуек. Постановка опыта производилась по Fiskesjo [20] с предварительным проращиванием луковиц в дистиллированной воде в течение суток для определения жизнеспособности. После такой обработки были выбраны 25 луковиц по 5 луковиц на каждую концентрацию водного раствора экстракта органа растения и контроль (дистиллированная вода) с корешками 2–3 мм.

Всего эксперимент длился 96 ч в темноте при комнатной температуре. После завершения эксперимента корешки обрезали и фиксировали в уксусном спирте (96% спирт + ледяная уксусная кислота в пропорциях 3 : 1) в течение суток, а затем для долговременного хранения материала проводили трехкратное промывание в 80% спирте по часу и помещали в плотно закрывающиеся пробирки.

Для приготовления препаратов корешки подвергались гидролизу и одновременному окрашиванию в керамических тиглях в нагретом до кипения над пламенем спиртовки растворе красителя 2% ацетоорсеина (орсеин производства ООО НПП «ПанЭко», Россия). После остывания тигли оставляли при температуре 4 °C на 24–72 ч [21].

Для каждой концентрации экстракта органа растения и контроля было взято по 5 корешков и приготовлено 5 давленных препаратов. У окрашенного корешка отделялся скальпелем образец (кончик корня с зоной роста) длиной 3–4 мм, помещался на предметное стекло с каплей ледяной уксусной кислоты. Далее образец накрывался покровным стеклом, прижимался салфеткой и аккуратно раздавливался стеклянной палочкой с тупым концом постукивающими движениями. В каждом препарате был произведен подсчет около 1000 клеток с отметкой фаз и хромосомных aberrаций на увеличении $\times 400$. Всего было посчитано более 150000 клеток.

Митотический индекс (МИ) рассчитывали как отношение количества всех делящихся клеток на общее количество подсчитанных клеток в препарате, выраженное в процентах.

Процент нарушений рассчитывали как отношение количества всех нарушений в делящихся клетках на общее количество подсчитанных клеток в препарате, выраженное в процентах.

Статистический анализ. Статистический анализ данных Аллиум-теста проводился на языке программирования R. Для установления нормальности распределения выборок был проведен тест Шапиро-Уилка. Сравнение показателей митотического индекса и долей aberrантных клеток в разных концентрациях проводили тестами Тьюки и Данна соответственно. Различия в митотическом индексе и доли клеток с нарушениями между органами растения, собранных с разных площадок, в каждой из концентраций определяли критерием Стьюдента и критерием Манна-Уитни соответственно. Во всех случаях был принят уровень значимости $p \leq 0.05$.

Статистический анализ данных химического анализа был выполнен в MS Excel 2010. Статистически значимые различия оценивались с помощью дисперсионного анализа и последующего теста Тьюки при $p \leq 0.05$. Все измерения были выполнены три раза для каждого анализа. Результаты выражены в виде среднего значения \pm стандартного отклонения (SD).

Обсуждение результатов

Данные химических анализов показали, что определяемые параметры для различных частей растения достоверно отличаются при $p < 0.05$. Исходя из полученных результатов, можно сказать, что все надземные части растения *R. acris* обладали антиоксидантной активностью. Кроме того, во всех надземных частях на обеих площадках наблюдали сходные показатели уровня содержания фенольных компонентов и флавоноидов (рис. 1, 2). Полученные в ходе химических анализов данные свидетельствовали о том, что наибольшую антиоксидантную активность имели цветки на обоих участках (рис. 3), в то время как наибольшее значения по показателям TFC (рис. 1) наблюдали в листьях и цветах на Кировской площадке. По параметру TPC (рис. 2) максимальные значения обнаружены в листьях с Апатитской площадки, а листья и цветки с Кировской площадки имели приблизительно сходные значения. В целом, для параметров TPC, TFC и DPPH наблюдали сходные закономерности изменения в зависимости от органа растения. Исходя из полученных результатов,

можно сказать, что все надземные части растения *R. acris* на обеих территориях обладали невысокой активностью подавлять свободные радикалы (рис. 4).

Обработка корней *A. sera* водными растворами листьев *R. acris* с площадки Апатиты показала более высокие значения МИ по сравнению растворами с листьев с площадки Кировск во всех концентрациях (рис. 2а). В растворах цветков и стеблей *R. acris* различий не обнаружено (рис. 2б, в).

Наблюдали концентрационно-зависимое снижение МИ после обработки корней растворами листьев *R. acris* как собранных в Кировске, так и в Апатитах. Такая же зависимость отмечалась в растворах стеблей *R. acris*, собранных на площадке в Кировске.

Цитогенетический анализ показал, что экстракты листьев *R. acris*, собранных с площадки Кировск оказывают достоверно более генотоксическое действие, чем экстракты листьев *R. acris*, собранных с площадки Апатиты во всех концентрациях, кроме 10% (табл.).

Часто встречающимися аномалиями в меристематических клетках корня *A. sera* после обработки растворами экстрактов органов *R. acris* с площадок Апатиты (рис. 3–5) и Кировск (рис. 6–8) были ядерные почки (16% от общего количества аберраций), слипание хромосом в метафазе и анафазе (35%), фрагменты и отставания хромосом (17%), нарушение работы веретена деления (20%). В малой доле встречались мосты в анафазе, их доля была 6% от общего числа аберраций и С-митоз, доля которого составляла 5%.

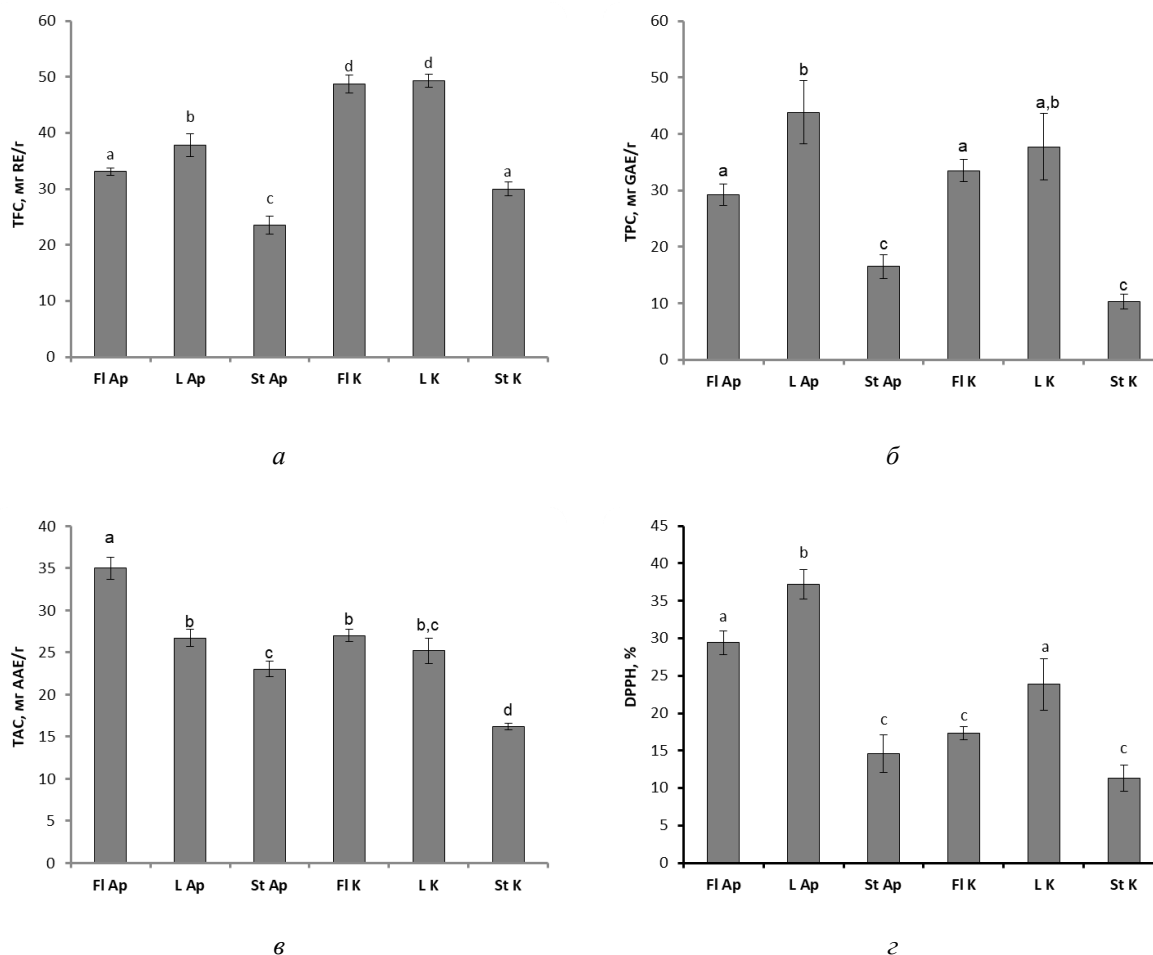


Рис. 1. Общее содержание фенольных компонентов (а), флавоноидов (б), антиоксидантная активность (в), антирадикальная активность (г) в экстрактах различных органов *Ranunculus acris*, собранного в разных географических точках (Fl Ap – цветки Апатиты, L Ap – листья Апатиты, St Ap – стебли Апатиты, Fl K – цветки Кировск, L K – листья Кировск, StK – стебли Кировск). Разными буквами обозначены значения, достоверно отличающиеся друг от друга (p < 0.05)

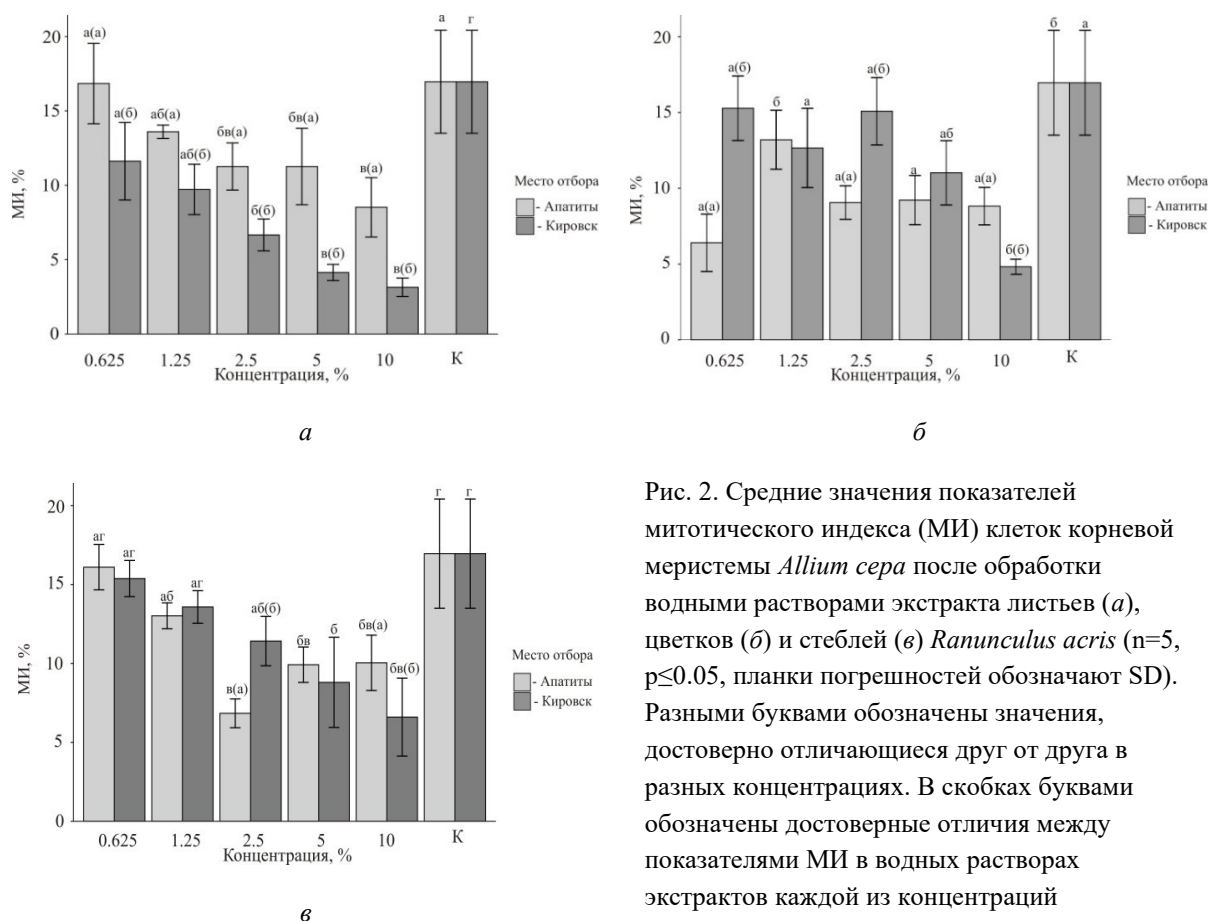


Рис. 2. Средние значения показателей митотического индекса (МИ) клеток корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта листьев (а), цветков (б) и стеблей (в) *Ranunculus acris* (n=5, p<0.05, планки погрешностей обозначают SD). Разными буквами обозначены значения, достоверно отличающиеся друг от друга в разных концентрациях. В скобках буквами обозначены достоверные отличия между показателями МИ в водных растворах экстрактов каждой из концентраций

Доля aberrantных клеток в митозе клеток корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта органов *Ranunculus acris*, собранных на площадках Апатиты и Кировск

Орган	Локация/Концентрация	NC	0.625	1.25	2.5	5	10
Цветки	Апатиты	0.5	3.3	0.5 ^a	3.3 ^a	10.1 ^a	7.0 ^a
	Кировск	0.5	4.0	8.1 ^b	6.9 ^b	5.0 ^b	0.0 ^b
Листья	Апатиты	0.5	0.2 ^a	1.2 ^a	5.0	3.3 ^a	6.9 ^a
	Кировск	0.5	0.8 ^b	5.2 ^b	7.2	21.6 ^b	0.0 ^b
Стебли	Апатиты	0.5	0.4 ^a	1.2	3.9	2.8	3.6
	Кировск	0.5	1.9 ^b	0.8	2.4	2.2	6.0

Примечание. Разными буквами обозначены значения, достоверно отличающиеся друг от друга в разных концентрациях. В скобках буквами обозначены достоверные отличия между показателями МИ в водных растворах экстракта стеблей в каждой из концентраций.

Понижение скорости деления клеток с возрастанием концентрации экстрактов *R. acris* в растворе указывает на цитотоксическое влияние веществ из раствора. Данный эффект уже описан в литературе и называется дозозависимым митодепрессивным действием веществ и может возникать из-за ингибирования синтеза ДНК или блокировки в фазе G2 клеточного цикла [22–24].

Отмечающееся отсутствие aberrаций в водном растворе экстрактов цветков и листьев в 10% концентрации одновременно с низким по сравнению с контролем митотическим индексом может свидетельствовать об антимиотическом действии веществ из экстракта. Антимиотики рассматриваются как блокаторы митоза и, следовательно, индукторы клеточной гибели, которые широко используются в химиотерапии и нацелены исключительно на пролиферативные клетки [25]. Обнаруженный в органах лютика протоанемонин обладает антимиотическим действием, впервые описанным в 1966 г.

Основными хромосомными аномалиями, отмеченными в настоящем исследовании, были ядерные почки, слипание хромосом, мосты в анафазе, фрагменты хромосом и нарушение работы веретена деления клетки. Хромосомные aberrации в клетках были вызваны химическими веществами в водных экстрактах органов *R. acris*, поскольку такие aberrации не наблюдались в контроле.

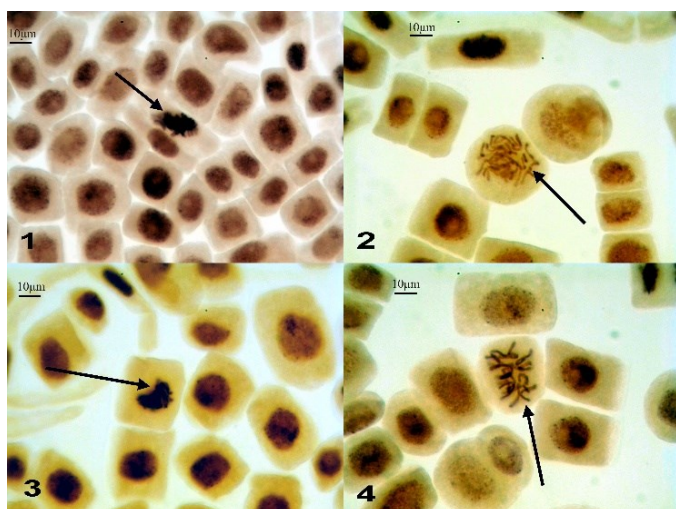


Рис. 3. Аберрации в клетках корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта листьев *Ranunculus acris*, собранных на площадке Апатиты. 1, 3 – слияние хромосом в метафазе; 2, 4 – нарушение работы веретена деления в анафазе и метафазе. Окрашивание ацетоорсеином, увеличение $\times 400$

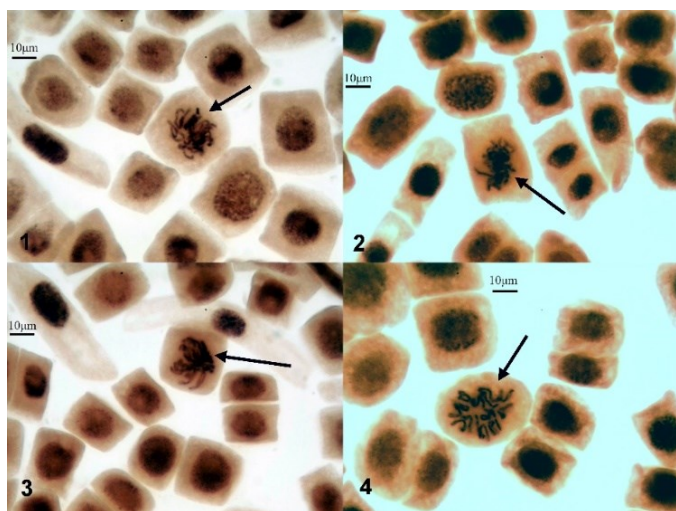


Рис. 4. Аберрации в клетках корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта стеблей *Ranunculus acris*, собранных на площадке Апатиты. 1, 2, 3 – слияние хромосом в метафазе; 4 – С-митоз. Окрашивание ацетоорсеином, увеличение $\times 400$

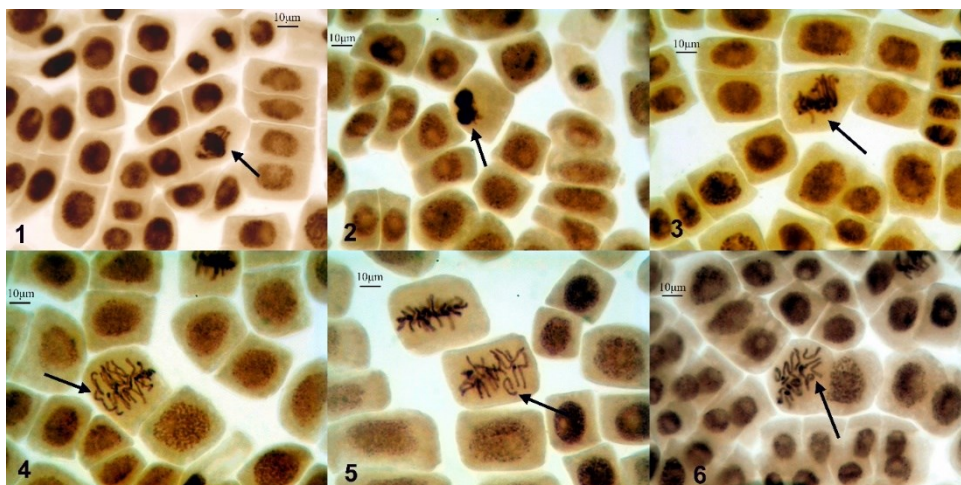


Рис. 5. Аберрации в клетках корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта цветков *Ranunculus acris*, собранных на площадке Апатиты. 1, 3 – слияние хромосом в метафазе; 2 – нарушение работы веретена деления телофазе, вероятно слияние; 4 – нарушение работы веретена деления; 5 – отставание хромосом в метафазе; 6 – С-митоз. Окрашивание ацетоорсеином, увеличение $\times 400$

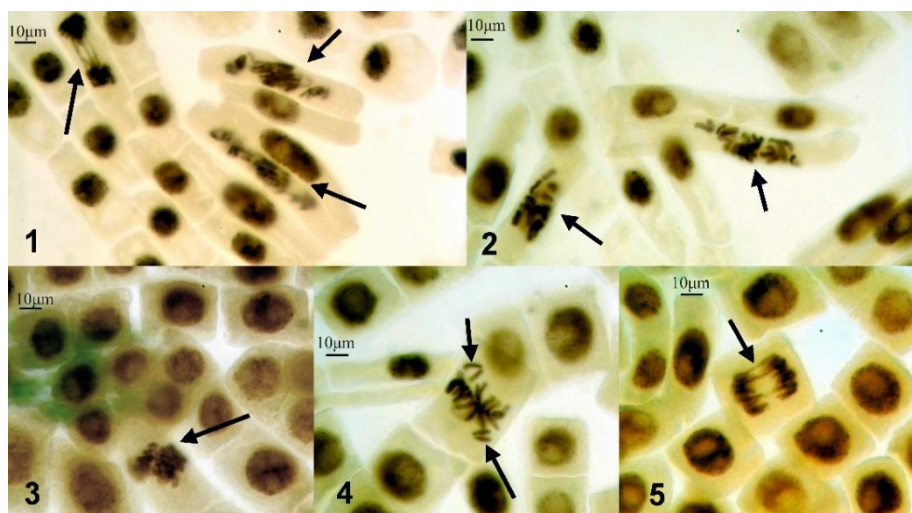


Рис. 6. Аберрации в клетках корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта листьев *Ranunculus acris*, собранных на площадке Кировска. 1, 2 – мосты, слияние хромосом, нарушения работы веретена деления в анафазе; 3 – слияние хромосом в метафазе; 4 – отставание хромосом в метафазе, 5 – мосты в анафазе. Окрашивание ацетоорсеином, увеличение $\times 400$

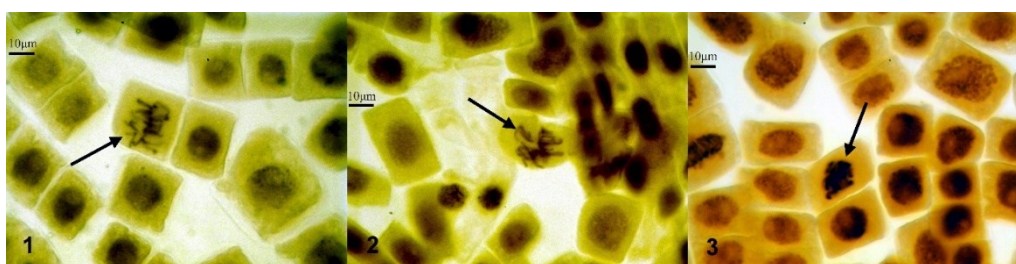


Рис. 7. Аберрации в клетках корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта стеблей *Ranunculus acris*, собранных на площадке Кировска. 1 – отставание хромосом в метафазе; 2 – отставание хромосом; 3 – слияние хромосом в метафазе. Окрашивание ацетоорсеином, увеличение $\times 400$

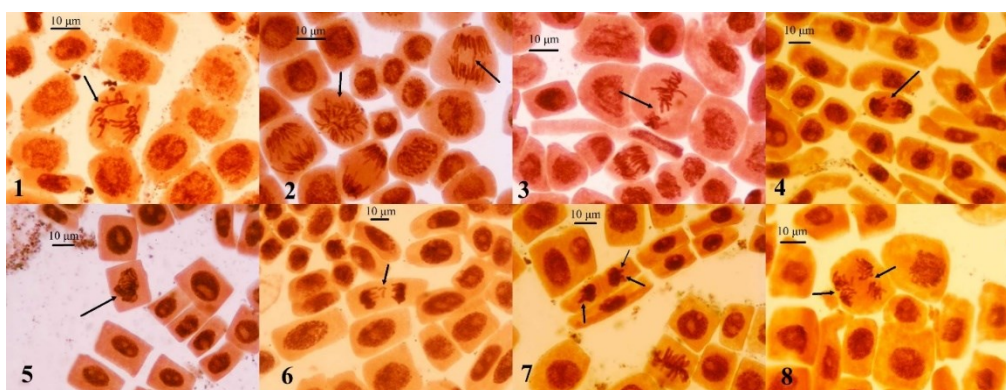


Рис. 8. Аберрации и прочие нарушения в митозе клеток корневой меристемы *Allium cepa* после обработки водными растворами экстракта цветов *Ranunculus acris*. 1 – нарушение работы веретена деления в метафазе; 2 – многополюсной митоз и мост в анафазе; 3 – нарушение в метафазе; 4 – слияние хромосом в анафазе; 5 – слияние хромосом в метафазе; 6 – фрагменты хромосом в телофазе; 7 – отставание хромосом и появление ядерных почек в телофазе; 8 – нарушение работы веретена деления в анафазе. Окрашивание ацетоорсеином, увеличение $\times 400$

Слипание хромосом является часто встречающимся нарушением митоза в разнообразных исследованиях на луке. В своем классическом понимании этот термин относится к тяжелой степени, когда хромосомы видны при анализе в микроскопе как плотные структуры из-за дефектов негистоновых белков [26].

Хромосомные мостики также могут быть вызваны слипанием хромосом из-за нарушения процесса конденсации хроматина в отдельные хроматиды и хромосомы, которое делает их разделение неполным, поэтому они остаются соединены мостами.

Ядерные почки происходят из ядерной оболочки *in situ* в определенных областях ядер в стадии интерфазы клеток, что может быть результатом избыточной продукции нуклеиновых кислот и белков, индуцированной цитотоксикантами [27].

Блуждающие и отстающие хромосомы, фрагменты являются индикаторами нарушения работы веретена деления клетки [28]. Все эти нарушения в меристематических клетках *A. sepa* обычно имеют необратимую природу и в настоящем исследовании указывают на токсичные свойства тестируемых водных растворов экстрактов органов *R. acris*.

Выводы

В работе впервые получены данные об антиоксидантной активности надземных органов *R. acris*. Обнаружено, что в образцах листьев, собранных с площадки ботанического сада Кировска, наблюдалось максимальное содержание флавоноидов: 49.3 ± 1.2 мг РЕ/г. В свою очередь, максимальное содержание полифенольных компонентов 43.8 ± 5.6 мг ГАЕ/г, а также наивысший уровень антирадикальной активности $37.17 \pm 1.96\%$ наблюдался в образцах листьев, собранных в Апатитах. Наиболее высокой антиоксидантной активностью обладали экстракты цветков с площадки №1: 35 ± 1.3 мг ААЕ/г. Экстракты листьев, собранных в Кировске, показали большее митодепрессивное и генотоксическое действие по сравнению с растворами листьев, собранных с площадки Апатиты. В растворах цветков и стеблей *R. acris*, собранных с обеих площадок, подобной зависимости не отмечалось. Полученные данные могут быть полезны для дальнейшего изучения вида *R. acris* как возможно перспективного источника для создания фармацевтических препаратов и показывают влияние различного географического положения мест произрастания *R. acris* не только на химический состав, но и на биологические свойства экстрактов изучаемого растения.

Финансирование

Работа выполнена в рамках темы НИР FMEZ-2023-0012.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Смирнова А.Н., Пунегов В.В., Зайнуллина К.С. О содержании флавонолов в листьях некоторых видов *Spiraea* на севере (Республика Коми) // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2020. №134. С. 61–67. DOI: 10.36305/0513-1634-2020-134-61-67.
2. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Батова Ю.В., Титов А.Ф. Устойчивость семенного потомства растений из природных популяций *Deschampsia cespitosa* арктической зоны к повышенным концентрациям цинка // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2022. Т. 27, №1. С. 70–79. DOI: 10.31242/2618-9712-2022-27-1-70-79.
3. Адаев В.Н. Пищевое использование растений в практике тундровых ненцев // Этнография. 2023. №1 (19). С. 164–182. DOI: 10.31250/2618-8600-2023-1(19)-164-182.
4. Сидакова Т.М., Кусова Р.Д. Ресурсоведческая характеристика и запасы сырья некоторых дикорастущих лекарственных растений цейской фитозоны РСО-Алания // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2020. Т. 22, №5. С. 103–109. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-5-103-10.
5. Цветов Н.С., Коровкина А.В., Паукшта О.И. Экстракция флавоноидов из *Koenigia Weyrichii* с помощью глубокой эвтектической смеси хлорид холина + глицерин // Химия растительного сырья. 2021. №4. С. 199–206. DOI: 10.14258/jcprn.2021049530.

6. Turek C., Herrick A., Bertrams J., Mörbt N., Beckmann C., Müller M.B., Vögele P., Stintzing F.C. Preclinical safety assessment of an aqueous fermented *Helleborus niger* plant extract // *Toxicology Letters*. 2016. Vol. 258. P. S32. DOI: 10.1016/j.toxlet.2016.06.2096.
7. Mou L.-Y., Guo J.-Y., Jiang W., Zhang F.-M., Li J.-L. Phytochemical and chemotaxonomic investigation from the roots of *Anemone vitifolia* Buch. - Ham. (Ranunculaceae) // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2021. Vol. 97. 104306. DOI: 10.1016/j.bse.2021.104306.
8. Белых. О.А. Биологически активные вещества и полезные свойства представителей семейства *RANUNCULACEAE JUSS.* (ОБЗОР) // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2014. №5 (10). С. 25–32.
9. Nadaf M., Joharchi M.R., Amiri M.S. Ethnomedicinal uses of plants for the treatment of nervous disorders at the herbal markets of Bojnord, North Khorasan Province, Iran // *Avicenna J. Phytomed*. 2019. Vol. 9. Pp. 153–163.
10. Prajitha V., Thoppil J.E. Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. using *Allium cepa* assay // *S. Afr. J. Bot.* 2016. Vol. 102. Pp. 18–25. DOI: 10.1016/J.SAJB.2015.06.018.
11. Дурнев А.Д., Лапицкая А.С. Генотоксикология соединений растительного происхождения // *Экологическая генетика*. 2012. Т. 10, №3. С. 41–52. DOI: 10.17816/ecogen10341-52.
12. Ribeiro I.A. *Allium Test in Environmental Monitoring and Health*. Novas Edições Acadêmicas, OmniScriptum Publishing: Riga, Latvia, 2018. 94 p.
13. Bonciu E., Firbas P., Fontanetti C.S. et al. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay // *Caryologia*. 2018. Vol. 71. Pp. 191–209. DOI: 10.1080/00087114.2018.1503496.
14. Коровкина А.В., Цветов Н.С., Михайлова С.И. Влияние климатических условий на накопление биологически активных соединений растения *Koenigia Weyrichii* // *Химия растительного сырья*. 2022. №4. С. 249–258. DOI: 10.14258/jcprm.20220411384.
15. ОФС.1.1.0005.15 Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов // *Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV изд. М., 2018. Т. 2. С. 1962–1967.*
16. Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Nikolaev V.G. Flavonoid content and antioxidant activity of extracts of *Polygonum weyrichii* fr. Schmidt // *IOP conf. ser. earth environ. sci.* 2020. Vol. 42. 52044. DOI: 10.1088/17551315/421/5/052044.
17. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent // *Nat. Protoc.* 2007. Vol. 2. Pp. 875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
18. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E // *Anal. Biochem.* 1999. Vol. 269. Pp. 337–341. DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
19. Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical // *Nature*. 1958. Vol. 181. Pp. 1199–1200. DOI: 10.1038/1811199a0.
20. Fiskesjö G. *Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters* // *Plants for Environmental Studies*. Boca Raton, New York: CRC Lewis Publisher, 1997. Pp. 308–333.
21. Medvedeva M.Y., Bolsunovsky A.Y., Zotina T.A. Cytogenetic abnormalities in aquatic plant *Elodea canadensis* in anthropogenic contamination zone of Yenisei River // *Contemp. Probl. Ecol.* 2014. Vol. 7. Pp. 422–432. DOI: 10.1134/S1995425514040088.
22. Bruneri. Synthesis of DNA and mitosis in relation to cell differentiation in the roots of *Vicia faba* and *Lactuca sativa* // *Cytologia*. 1971. Vol. 36. Pp. 229–247.
23. Christopher H.B., Kapoor M.B. The cytogenetic effects of sodium salicylate on the root meristem cells of *Allium sativa* L // *Cytologia*. 1988. Vol. 54. Pp. 203–209.
24. Sudhakar R., Ninge Gowda K.N., Venu G. Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa* // *Cytologia*. 2001. Vol. 66, no. 3. Pp. 235–239. DOI: 10.1508/cytologia.66.235.
25. Antu M.J., Vaishnavi A., Aswathy A. Anti-mitotic activity of aqueous leaf extracts of *Azadirachta indica* A. Juss. and *Simarouba glauca* DC. on *Allium cepa* L. root tips // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2020. Vol. 9, no. 5. Pp. 485–489.
26. Farizan A., Norfatimah M.Y., Aili, Z.N., Lyena W.Z.A., Indah M.A. Use of cytological and molecular biological method for water pollution monitoring // *Int. Natl. Symp. Aquat. Environ. Fish. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 2021. Vol. 674. 012108. DOI: 10.1088/1755-1315/674/1/012108.
27. Nisha K.K. Cytotoxic Effect of *Crotalaria laburnifolia* L. leaf extract on *Allium cepa* root tip cells // *Journal of Advances in Biological Science*. 2017. Vol. 4, no. 2. Pp. 72–75.
28. Redli P.M., Gasic I., Meraldi P., Nigg E.A., Santamaria A. The Ska complex promotes Aurora B activity to ensure chromosome biorientation // *J. Cell Biol.* 2016. Vol. 215. Pp. 77–93. DOI: 10.1083/jcb.201603019.

Поступила в редакцию 19 октября 2023 г.

После переработки 23 января 2024 г.

Принята к публикации 23 апреля 2024 г.

Koygerova A.A.*, Smirnova M.V., Smirnov A.A., Tsvetov N.S. COMPARISON OF THE CHEMICAL COMPOSITION AND ASSESSMENT OF GENOTOXICITY OF AQUEOUS EXTRACTS FROM THE AERIAL PARTS OF *RANUNCULUS ACRIS* (L.) USING THE ALLIUM TEST

FRC Kola Science Center of the Russian Academy of Sciences, Fersmana st., 14, Apatity, 184209, Russia, a.koygerova@ksc.ru

Ranunculus acris (L.) is a common plant with poisonous properties and used in folk medicine. The use of herbal medicines requires the study of chemical composition, toxicity and genotoxicity. The aim of the study was to compare the toxic and genotoxic effects of aqueous solutions of *R. acris* organs from the sites of the botanical garden in Apatity and Kirovsk in concentrations of 0.625, 1.25, 2.5, 5 and 10% using an Allium test. The objects of the study were 6 samples of various above ground organs of the buttercup, harvested in the summer in two different places of growth and cultivation. The study of the chemical composition was carried out using standard methods for the determination of BAS in plant tissues. The Allium test was carried out on an onion of the Stuttgart Riesen variety. It was shown that *R. acris* flowers from both sites showed high values of antioxidant activity (TAC) leaves and flowers from the site in Kirovsk showed values of the total content of flavonoids (TFC) higher than from the site in Apatites, and leaves from Apatites showed values of the total content of phenols (TPC). Chromosomal aberrations were more common in solutions of *R. acris* leaves from the Kirovsk site. Solutions of *R. acris* leaves collected from the site in Kirovsk showed a greater mitodepressive and genotoxic effect compared to solutions of leaves collected from the site in Apatites, in solutions of flowers and stems of *R. acris* collected from both sites, no such dependence was noted.

Keywords: Allium cepa, aqueous extract, *Ranunculus acris*, genotoxicity, aberrations, flavonoids, extreme conditions, Arctic.

For citing: Koygerova A.A., Smirnova M.V., Smirnov A.A., Tsvetov N.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 3, pp. 231–241. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240313815.

References

- Smirnova A.N., Punegov V.V., Zaynullina K.S. *Byulleten' Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*, 2020, no. 134, pp. 61–67. DOI: 10.36305/0513-1634-2020-134-61-67. (in Russ.).
- Kaznina N.M., Laydinen G.F., Batova Yu.V., Titov A.F. *Prirodnyye resursy Arktiki i Subarktki*, 2022, vol. 27, no. 1, pp. 70–79. DOI: 10.31242/2618-9712-2022-27-1-70-79. (in Russ.).
- Adayev V.N. *Etnografiya*, 2023, no. 1 (19), pp. 164–182. DOI: 10.31250/2618-8600-2023-1(19)-164-182. (in Russ.).
- Sidakova T.M., Kusova R.D. *Mediko-farmatsevticheskiy zhurnal "Pul's"*, 2020, vol. 22, no. 5, pp. 103–109. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-5-103-10. (in Russ.).
- Tsvetov N.S., Korovkina A.V., Paukshta O.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 4, pp. 199–206. DOI: 10.14258/jcprm.2021049530. (in Russ.).
- Turek C., Herrick A., Bertrams J., Mörbt N., Beckmann C., Müller M.B., Vögele P., Stintzing F.C. *Toxicology Letters*, 2016, vol. 258, p. S32. DOI: 10.1016/j.toxlet.2016.06.2096. (in Russ.).
- Mou L.-Y., Guo J.-Y., Jiang W., Zhang F.-M., Li J.-L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2021, vol. 97, 104306. DOI: 10.1016/j.bse.2021.104306.
- Belykh. O.A. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 2014, no. 5 (10), pp. 25–32. (in Russ.).
- Nadaf M., Joharchi M.R., Amiri M.S. *Avicenna J. Phytomed.*, 2019, vol. 9, pp. 153–163.
- Prajitha V., Thoppil J.E. *S. Afr. J. Bot.*, 2016, vol. 102, pp. 18–25. DOI: 10.1016/J.SAJB.2015.06.018.
- Durnev A.D., Lapitskaya A.S. *Ekologicheskaya genetika*, 2012, vol. 10, no. 3, pp. 41–52. DOI: 10.17816/ecogen10341-52. (in Russ.).
- Ribeiro I.A. *Allium Test in Enviromental Monitoring and Health*. Novas Edições Acadêmicas, OmniScriptum Publishing: Riga, Latvia, 2018, 94 p.
- Bonciu E., Firbas P., Fontanetti C.S. et al. *Caryologia*, 2018, vol. 71, pp. 191–209. DOI: 10.1080/00087114.2018.1503496.
- Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Mikhaylova S.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 249–258. DOI: 10.14258/jcprm.20220411384. (in Russ.).
- Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii, XIV izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed.]. Moscow, 2018, vol. 2, pp. 1962–1967. (in Russ.).
- Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Nikolaev V.G. *IOP conf. ser. earth environ. sci.*, 2020, vol. 42, 52044. DOI: 10.1088/17551315/421/5/052044.
- Ainsworth E.A., Gillespie K.M. *Nat. Protoc.*, 2007, vol. 2, pp. 875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M. *Anal. Biochem.*, 1999, vol. 269, pp. 337–341. DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
- Blois M.S. *Nature*, 1958, vol. 181, pp. 1199–1200. DOI: 10.1038/1811199a0.
- Fiskesjö G. *Plants for Environmental Studies*. Boca Raton, New York: CRC Lewis Publisher, 1997, pp. 308–333.
- Medvedeva M.Y., Bolsunovsky A.Y., Zotina T.A. *Contemp. Probl. Ecol.*, 2014, vol. 7, pp. 422–432. DOI: 10.1134/S1995425514040088.
- Bruneri. *Cytologia*, 1971, vol. 36, pp. 229–247.
- Christopher H.B., Kapoor M.B. *Cytologia*, 1988, vol. 54, pp. 203–209.
- Sudhakar R., Ninge Gowda K.N., Venu G. *Cytologia*, 2001, vol. 66, no. 3, pp. 235–239. DOI: 10.1508/cytologia.66.235.

* Corresponding author.

25. Antu M.J., Vaishnavi A., Aswathy A. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2020, vol. 9, no. 5, pp. 485–489.
26. Farizan A., Norfatimah M.Y., Aili, Z.N., Lyena W.Z.A., Indah M.A. *Int. Natl. Symp. Aquat. Environ. Fish. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 2021, vol. 674, 012108. DOI: 10.1088/1755-1315/674/1/012108.
27. Nisha K.K. *Journal of Advances in Biological Science*, 2017, vol. 4, no. 2, pp. 72–75.
28. Redli P.M., Gasic I., Meraldi P., Nigg E.A., Santamaria A. *J. Cell Biol.*, 2016, vol. 215, pp. 77–93. DOI: 10.1083/jcb.201603019.

Received October 19, 2023

Revised January 23, 2024

Accepted April 23, 2024

Сведения об авторах

Койгерова Алена Алексеевна – научный сотрудник,
a.koygerova@ksc.ru

Смирнова Мария Васильевна – научный сотрудник,
zbe3do4et@mail.ru

Смирнов Андрей Анатольевич – инженер,
adstud@mail.ru

Цветов Никита Сергеевич – кандидат химических наук,
научный сотрудник, n.tsvetov@ksc.ru

Information about authors

Koygerova Alena Alekseevna – Researcher,
a.koygerova@ksc.ru

Smirnova Maria Vasilievna – Researcher,
zbe3do4et@mail.ru

Smirnov Andrey Anatolyevich – Engineer, adstud@mail.ru

Tsvetov Nikita Sergeevich – Candidate of Chemical
Sciences, Researcher, n.tsvetov@ksc.ru