*ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ, 2026, том 73, № 6*

*УДК 581.1:57.085:582.65*

DOI Экспериментальная статья / Experimental article

# Аристолохиевые кислоты и аристолактамы видов рода *Aristolochia ex situ* и *in vitro*

**©2026 г. Е. П. Юсупова, В. П. Григорчук, О. В. Наконечная***

*Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия*

**e-mail: markelova@biosoil.ru*

*Аннотация.* Изучен состав аристолохиевых кислот (АК[1]) и аристолактамов (АЛ) 8 видов рода *Aristolochia* (сем. *Aristolochiaceae*) у растений, произрастающих в условиях *ex situ* и их микроклонов, полученных *in vitro*. Методы высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ и масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-УФ-МС) использовали для профилирования и количественного определения алкалоидов. В водно-метанольных экстрактах растений *Aristolochia* обнаружены 14 фенантреновых алкалоидов, среди них 7 соединений с открытой нитрогруппой и 7 соединений с лактамным циклом, как свободных, так и в форме глюкозидов. Идентифицирован апорфиновый алкалоид магнофлорин, отмеченный в основном у микроклонов. Профили алкалоидов экстрактов микрорастений и растений *ex situ* у большинства исследованных видов совпадали. Для видов секции *Siphisia* показано наличие АЛ Ia-глюкозида (АЛ Ia-Глк) у микроклонов *A. manshuriensis* и АК IIIa вместе с АК IVa у микроклонов *A. californica*. В микроклонах, кроме *A. baetica* преобладали АК I и АК II. У растений *A. contorta* данные вещества не обнаружены. Для *A. fimbriata*, *A. baetica* и *A. gigantea* выявлены низкие концентрации АК I и АА II.

*Ключевые слова: Aristolochia, ex situ, in vitro,* аристолактам, аристолохиевая кислота, микроклонирование.

*Финансирование.* Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124012200181–4).

*Соблюдение этических стандартов.* Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

[1]*Сокращения*: АК – аристолохиевая кислота, АЛ – аристолактам.

*Вклад авторов*. Идея, анализ результатов и подготовка рукописи – В.П.Г., О.В.Н., проведение экспериментов – В.П.Г., Е.П.Ю.

*Благодарность.* Выражаем благодарность уважаемому рецензенту за ценнейшие комментарии и рекомендации по улучшению рукописи. Исследование проведено с использованием микрорастений из коллекции ресурсов Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук № USU-2797657.

Сс*ылка цитирования:*

**Aristolochic Acids and Aristolactams of *Aristolochia* Species *Ex situ* and *In vitro***

**E. P. Yusupova, V. P. Grigorchuk, O. V. Nakonechnaya**

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia*

**e-mail: markelova@biosoil.ru*

*Abstract*. Composition of aristolochic acids (AAs) and aristolactams (ALs) was studied in plants of eight species from the genus *Aristolochia* (Aristolochiaceae) grown *ex situ* and their microclones cultivated *in vitro*. High-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet and mass spectrometric detection (HPLC–UV–MS) was used for profiling and quantification of alkaloids. A total of 14 phenanthrene alkaloids were detected in aqueous-methanol extracts of the *Aristolochia* plants, including seven compounds with an open nitro group (AAs) and seven lactam alkaloids (ALs) which occurred both in the free form and as glucosides. The aporphine alkaloid magnoflorine was identified mainly in microclones. The alkaloid profiles of the extracts of microclones were similar to those of *ex situ*-grown plants for most of the studied species. For the species from the section *Siphisia*, the presence of AL Ia-glucoside was revealed in *A. manshuriensis* microclones, and AA IIIa along with AA IVa were found in *A. californica* microclones. In microclones other than *A. baetica*, AA I and AA II dominated. These substances were not found in *A. contorta* plants. Low concentrations of AA I and AA II were detected in *A. fimbliata*, *A. baetica*, and *A. gigantea*.

*Keywords: Aristolochia*, aristolactam, aristolochic acid, *ex situ*, *in vitro*, microclonal propagation.

*Funding.* This work was carried out within the framework of a state assignment from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (topic no. 124012200181–4).

*Ethics declarations.* This work does not contain any studies involving human and animal subjects.

*Conflict of interests.* The authors of this work declare that they have no conflicts of interest.

*Authors contribution.* Idea, analysis of results and preparation of the manuscript – V.P.G., O.V.N., conducting the experiments – V.P.G., E.P.Y.

*Acknowledgements*. Special thanks to the esteemed reviewer for the valuable comments and suggestions that have improved the manuscript.

The studies were conducted using microplants from the resource collection of the Federal Scientific Center for East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (FEB RAS resource collection no. USU-2797657).
*For Citation*:

# ВВЕДЕНИЕ

*Aristolochia* L. – род растений на протяжении столетий известный своим обширным применением в традиционной китайской медицине, используется в лечебных целях с греко-римского периода [1]. Некоторые виды *Aristolochia* обладают инсектицидным и репеллентным действием, сырые экстракты проявляют значительную антимикробную активность, для лечения лихорадки, гриппа, диабета, орхита, паразитов или как желудочный антисептик [2, 3], их использовали для лечения опухолей, укусов змей, акушерских заболеваний, ревматизма, оспы и пневмонии, в качестве мочегонного и обезболивающего средства и много другого [4–6]. Обширное лекарственное применение видов рода связано с наличием вторичных метаболитов, которые охватывают 16 основных групп, классифицированных по их химической структуре, включая аристолохиевые кислоты (АК) и эфиры, аристолактамы (АЛ), порфины, протоберберины, изохинолины, бензилизохинолины, амиды, флавоноиды, лигнаны, бифениловые эфиры, кумарины, тетралоны, терпеноиды, бензоиды, стероиды и другие [7].

Аристолохиевые кислоты – смесь структурно родственных нитрофенантренкарбоновых кислот [1, 2]. У видов рода их идентифицировано 8 (I (A), Ia, II (B), III, IV, IIIa (C), IVa (D) и VIIIa (E)). Все АК являются производными 10-нитрофенантрен-1-карбоновой кислоты. Тип функциональной группы, присоединенной к 10-нитрофенантрен-1-карбоновой кислоте, делает одну АК структурно отличной от другой. Наиболее часто в составе кислот отмечены АК I (8-метокси-6-нитрофенантро(3,4-d)-1,3-диоксоло-5-карбоновая кислота) и АК II (6-нитрофенантро(3,4-d)-1,3-диоксоло-5-карбоновая кислота), которая отличается от АК I отсутствием метоксигруппы [2].

В видах рода *Aristolochia* было обнаружено 12 аристолактамов, среди которых АЛ I, AII и Ia N-β-D-глюкозид были наиболее часто встречающимися. Они образуются в результате реакции циклизации-конденсации продуктов восстановления аристолохиевых кислот [7].

Лекарственные свойства АК неоднозначны. Так АК I и IVa обладают противовоспалительным; противоревматическим действием [8, 9]. До 1982 г. АК, выделенные из *A. clematitis*, использовали в некоторых фармацевтических препаратах в качестве противовоспалительного средства. Но АК обладают также нефротоксическими и цитотоксическими свойствами [1, 10], которые были описаны еще в конце 1950-х и начале 1960-х гг. Нарушения, которые вызывают АК, названы аристолохиевой кислотной нефропатией [4, 11], быстро прогрессирующим фиброзом почек, связанным с длительным приемом трав, содержащих АК [1]. Заболевание характеризуется ранней, тяжелой

анемией, умеренной канальцевой протеинурией и первоначально нормальным артериальным давлением у половины пациентов. Нефропатия при биопсии показала обширный интерстициальный фиброз без гломерулярных поражений, а также атрофию и потерю канальцев [4]. Фармацевтические компании прекратили использование АК в качестве противовоспалительного средства после того, как было сообщено, что АК канцерогенен и также мутагенен *in vitro* [1]. Интересно, что не все АК опасны. Так, АК IVa не обладает генотоксичностью, что указывает на возможность структурного разделения терапевтических и токсических свойств [9].

Лекарственные свойства видов рода *Aristolochia* определены наличием аристолактамов, которые обладают противовоспалительными, антитромбоцитарными, антимикобактериальными и нейрозащитными свойствами [12, 13], природные аристолактамы и несколько синтетических производных аристолактама проявляют мощную противоопухолевую активность против широкого спектра линий клеток рака человека.

Таким образом, у видов рода *Aristolochia* метаболиты определяют лекарственные потенциал, действенность которого зависит от их качественного состава и количественного содержания. Известно, что на содержание метаболитов влияет ряд факторов, среди которых условия произрастания. Виды, обитающие в стрессовых экологических условиях, обладают повышенной устойчивостью к воздействию среды, и увеличивают биосинтетические процессы в сторону накопления защитных веществ (в том числе, вторичных метаболитов). Спектр метаболитов является отражением физиологического и биохимического состояния организма, и процессы синтеза веществ могут быть связаны с онтогенетическим развитием растения, временем года и особенностями культивирования [14, 15]. Исследование синтезов у микроклонов может способствовать получению нового источника метаболитов для лекарственно применения без риска для здоровья. Цель работы – сравнительный анализ профиля АК и АЛ в микроклонах (М) и растениях *ex situ* (Р) восьми видов *Aristolochia* методом ВЭЖХ с УФ и масс-селективным детектированием.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были проведены в Федеральном научном центре биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН) в секторе микроклонального размножения лесных, сельскохозяйственных и декоративных культур (г. Владивосток) в 2024–2026 гг.

Для анализа использованы листья растений 8 видов *Aristolochia* (секция *Diplolobus*: *A. baetica* L., *A. contorta* Bunge, *A. rotunda* L., *A. tuberosa* C.F.Liang & S.M.Hwang; секция *Gymnolobus*: *A. fimbriata* Cham., *A. gigantea* Mart. & Zucc.; секция *Siphisia*: *A. manshuriensis* Kom., *A. californica* Torr.). Растения выращены из семян, полученных по обмену (Делектусу) из ботанических садов Франции, Германии, Австрии, Румынии; произрастают в условиях теплицы (*ex situ*). Возраст растений, использованных в эксперименте, составил: тропические лианы – *A. baetica, A. gigantea, A. tuberosa* – 14 лет; лиана умеренного климата – *A. contorta* – 18 лет; травянистые растения – *A. fimbriata* – 12 лет, *A. rotunda* – 4 г.; одревесневающие лианы умеренного климата – *A. manshuriensis* и *A. californica* – 24 г. Все растения достигли генеративного онтогенетического состояния, кроме лиан *A. baetica* и *A. tuberosa*. Растения данных видов находятся в виргинильном онтогенетическом состоянии. Листья взяты из среднего яруса.

Для сравнения накопления метаболитов использовали микроклоны тех же видов. В качестве эксплантов брали участок стебля 0.5–1.0 см длиной с 1–2 пазушными почками. Для их культивирования применяли твердую питательную среду, содержащую половинную концентрацию растворенных в дистиллированной воде солей при следующем соотношении ингредиентов, мг/л: $NH_4NO_3$ 825.0; $KNO_3$ 950.0; $CaCl_2$ 166.1; $KH_2PO_4$ 85.0; $MgSO_4$ 90.35; $H_3BO_3$ 3.1; $MnSO_4{\times}2H_2O$ 8.45; $CoCl_2$ 0.0125; $CuSO_4{\times}5H_2O$ 0.0125; $Na_2MoO_4{\times}2H_2O$ 0.125; $ZnSO_4{\times}7H_2O$ 4.3; KI 0.415; $FeSO_4{\times}7H_2O$ 13.9; $Na_2EDTA{\times}2H_2O$ 18.63; пиридоксин 0.5; тиамин 0.5; аскорбиновая кислота 0.5; сахароза 20000; агар-агар 4000; дистиллированная вода – до 1 л. Питательную среду автоклавировали при 0.8 атм в течение 20 мин. Пробирки с эксплантами содержали в культуральной комнате при температуре 24 ± 1ºС, 16-часовом фотопериоде, освещении люминесцентными лампами с интенсивностью 4 тыс. лк. и 70% относительной влажности воздуха. Через 8 нед. микроклоны были использованы для исследования алкалоидов.

*Исследование вторичных метаболитов.* Аналитические стандарты магнофлорина, АК I и АК II приобретены в Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), аналитический стандарт АК IVa (D) – в MedChemExpress (China). Исследования вторичных метаболитов выполнены на оборудовании ЦКП “Биотехнология и генетическая инженерия” ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

Каждый образец анализировали в трех биологических повторностях. Для подготовки образцов сухой измельченный материал весом 100 мг (точная навеска) экстрагировали 2 мл 80% метилового спирта в течение 30 мин на ультразвуковой бане, затем выдерживали в темноте при комнатной температуре. Через 20 ч полученные экстракты

центрифугировали (15000 *g*, 10 мин), фильтровали (0.45 мкм фильтр, нейлон, Millipore, Bedford, MA, USA) и использовали для анализа.

Для хроматографического профилирования вторичных метаболитов использовали обращенно-фазовую ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием и масс-спектрометрией с электрораспылительной ионизацией. Анализ осуществляли на хроматографе 1260 Infinity (Agilent, США) оснащенном диодно-матричным детектором G1315D (Agilent, США). Разделение компонентов экстрактов проводили на аналитической колонке Zorbax C18 (длиной 150 мм, диаметром 2.1 мм и размером частиц 3.5 мкм, Agilent, США) при 40ºС со скоростью потока элюентов 0.2 мл/мин. Подвижная фаза состояла из растворов муравьиной кислоты (0.1%) в деионизированной воде (А) и ацетонитриле (Б). Программа бинарного градиента: 0–35 мин – 0–40% Б, 35–40 мин – 40–50% Б, 40–50 мин – 50–100% Б. Спектры поглощения записывали в диапазоне λ от 200 нм до 600 нм с использованием детектора на диодной матрице. Для полуколичественного определения хроматограммы записывали при λ = 237 нм (для определения магнофлорина) и λ = 254 нм (для определения фенантреновых алкалоидов). Для идентификации искомых веществ использовали тандемный масс-спектрометр Bruker HCT ultra PTM Discovery System (Bruker Daltonik, GmbH, Германия) соединенный с хроматографом. Масс-спектрометрический сигнал записывали в режиме ионизации электрораспылением и регистрации отрицательных и положительных ионов в диапазоне значений *m/z* 100–1000 Да. Использовали следующие параметры инструмента: скорость потока газа осушителя ($N_2$) составляла 8.0 л/мин, давление газа распылителя ($N_2$) – 25 psi, температура интерфейса – 325°С. Тандемную масс-спектрометрию проводили в автоматическом режиме при напряжении фрагментации 1 В.

Аналитическую ВЭЖХ с масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ-МСВР) для подтверждения идентификации алкалоидов проводили с использованием хроматомасс-спектрометра Shimadzu LCMS-IT-TOF (Киото, Япония), оснащенным жидкостным хроматографом высокого давления LC-20A Prominence и времяпролетным масс-спектрометром с ионной ловушкой. Масс-спектрометрические данные получали в режиме ионизации электрораспылением. Диапазон регистрируемых значений *m/z* составил 100–1400 Да, давление газа осушителя ($N_2$) – 195 кПа, поток газа распылителя – 1.5 л/мин, потенциал ионного источника был минус 3.8 кВ при регистрации отрицательных ионов и 4.5 кВ при регистрации положительных ионов, температура интерфейса была 200ºС. Тандемную масс-спектрометрию проводили, используя энергию

соударения, при которой остаточная интенсивность иона-прекурсора составляла 50% от исходной.

Полуколичественную оценку идентифицированных компонентов экстрактов *Aristolochia* проводили методом абсолютной градуировки с использованием коммерчески доступных стандартных образцов магнофлорина и АК I (использовали для определения содержания всех искомых фенатреновых алкалоидов). Градуировочные графики построены с использованием серий разведений веществ сравнения (10–1000 мкг/мл) с коэффициентом корреляции $R^2$ не менее 0.999. Пределы обнаружения LOD и определения LOQ составили 1.18 мкг/мл и 3.59 мкг/мл для магнофлорина, 0.64 мкг/мл и 1.94 для АК I, соответственно.

Полученные данные обрабатывали с использованием пакета “Statistica” версии 10.0. Таблицы и диаграмма построены на основе средних арифметических значений измеренных параметров со стандартной ошибкой. Для выявления отличий между группами М и Р применяли *t*-критерий Стьюдента для 95 и 99% уровня значимости. В эксперименте при проверке статистических гипотез критический уровень значимости принимали равным 0.05. При анализе суммарного содержания АК (∑АК) использовали Post Hoc Tests (ANOVA). Диаграмма содержания АК и АЛ представлена на основе сумм средних значений концентраций.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методом ВЭЖХ-УФ-МС исследованы метанольные экстракты 8 видов *Aristolochia* (*A. baetica, A. contorta, A. rotunda, A. gigantea, A. manshuriensis, A. californica, A. tuberosa, A. fimbriata*) и определены 15 биологически-активных азотсодержащих соединений (рис. 1–3, табл. 1): 7 АК, 7 АЛ и магнофлорин. Идентификацию компонентов проводили путем сравнения полученных данных (времени удерживания, УФ- и МС/$МС^2$ спектров) с имеющимися в наличии стандартными образцами и/или опубликованными данными для видов *Aristolochia* [16, 17] как мы заявляли ранее для культур клеток *A. manshuriensis* [18]. Информации по алкалоидам в растениях *Aristolochiaceae* достаточно, чтобы их идентификация не вызывала особых трудностей. УФ спектры искомых соединений показали характерные полосы поглощения [16]. Использование МСВР позволило установить точные массы исследуемых компонентов с погрешностью не более 4 мДа, и определить их элементный состав. Тандемные масс-спектры были изучены для каждого определяемого компонента. Апорфиновый алкалоид магнофлорин, а также фенатреновые алкалоиды с открытой нитрогруппой – АК IVa, АК II и АК I были идентифицированы в

сравнении со стандартными образцами. Для определения остальных алкалоидов, как кислот, так и лактамов, использовались ранее опубликованные данные [16, 17].

**Рис. 1**. Хроматографические профили ВЭЖХ-УФ анализов водно-метанольных экстрактов листьев растений (А) и микроклонов (Б) *A. contorta*, зарегистрированные при $\lambda$ = 254 нм. Нумерация пиков соответствует представленной в таблице 1.

**Fig. 1.** Chromatographic profiles of HPLC-UV analysis of methanol extracts from leaves of *A. contorta* plants (A) and microclones (B), recorded at λ = 254 nm. Peak numbering corresponds to that presented in Table 1.

**Рис. 2**. Хроматографические профили ВЭЖХ-УФ анализов водно-метанольных экстрактов листьев растений (А) и микроклонов (Б) *A. fimbriata*, зарегистрированные при $\lambda$ = 254 нм. Нумерация пиков соответствует представленной в таблице 1.

**Fig. 2.** Chromatographic profiles of HPLC-UV analysis of methanol extracts from leaves of *A. fimbriata* plants (A) and microclones (B), recorded at λ = 254 nm. Peak numbering corresponds to that presented in Table 1.

**Рис. 3**. Хроматографические профили ВЭЖХ-УФ анализов водно-метанольных экстрактов листьев растений (А) и микроклонов (Б) *A. rotunda*, зарегистрированные при $\lambda$ = 254 нм. Нумерация пиков соответствует представленной в таблице 1.

**Fig. 3.** Chromatographic profiles of HPLC-UV analysis of methanol extracts from leaves of *A. rotunda* plants (A) and microclones (B), recorded at λ = 254 nm. Peak numbering corresponds to that presented in Table 1.

Таблица 1. Список идентифицированных алкалоидов в водно-метанольных экстрактах листьев восьми видов рода *Aristolochia*

Table 1. List of identified alkaloids in aqueous-methanolic extracts of leaves from eight species of the *Aristolochia* genus

| №. * | Rt (мин) | λ мах (нм) | Детектируемые ионы, состав | Детектируемые ионы (*m/z*) | погрешность (мДа) | Формула | $MC^2$ фрагментация (*m/z*) | Идентификация |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 20.2 | 223, 268, 302 | $M^+$ | 342.1668 | 3.2 | $C_{20}H_{24}NO_4$+ | 311, 282, 297, 279, 265, 237 | Магнофлорин ** |
| | | | $[M-2H]^-$ | 340.1578 | 2.4 | | 325 | |
| | | | $[M-H+HCOO]^-$ | 386.1605 | 0.4 | | | |
| 2 | 24.7 | 236, 265, 282, | $[M+H]^+$ | 442.1098 | 3.5 | $C_{22}H_{19}NO_9$ | 424, 406, 388, 346, 322, 292, 280 | АЛ IIIa-глюкозид (изомер1) |
| | | 350, 399 | $[M+H-Hex]^+$ | 280.0596 | 0.8 | | | |
| | | | $[M-H]^-$ | 440.0986 | 0.1 | | 320, 292, 277, 249 | |
| | | | $[2M-H]^-$ | 881.2037 | 1.0 | | 440 | |
| 3 | 25.3 | 234, 264, 281, | $[M+H]^+$ | 442.1132 | 0.1 | $C_{22}H_{19}NO_9$ | 280 | АЛ IIIa-глюкозид (изомер2) |
| | | 344, 400 | $[M+H-Hex]^+$ | 280.0638 | 3.4 | | | |
| | | | $[M-H]^-$ | 440.0986 | 0.1 | | 320, 277, 249 | |
| | | | $[M-H+HCOO]^-$ | 486.1041 | 0.1 | | | |
| | | | $[2M-H+HCOO]^-$ | 927.2088 | 1.4 | | | |
| 4 | 26.0 | 219, 257, 307, | $[M+NH_4]^+$ | 507.1236 | 1.0 | $C_{22}H_{19}NO_{12}$ | 490, 444, 310, 284 | АК-IIIa-глюкозид |
| | | 350-390sh | $[M+H-H_2O-Hex]^+$ | 310.0381 | 3.5 | | | |
| | | | $[M-H]^-$ | 488.0844 | 1.0 | | 279 | |
| | | | $[M-H+HCOO]^-$ | 534.0906 | 1.7 | | 488, 428, 279 | |
| | | | $[2M-H]^-$ | 977.1730 | 1.2 | | 488, 428, 326 | |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 28.8 | 243, 324, 401 | $[M+NH_4]^+$ | 537.1319 | 3.2 | $C_{23}H_{21}NO_{13}$ | 474, 312 | АК IVa/IVb-глюкозид |
| | | | $[M+H-NO_2]^+$ | 474.1139 | 1.8 | | 312 | |
| | | | $[M+H-Hex-H_2O]^+$ | 340.0470 | 1.8 | | 296, 281 | |
| | | | $[M+H-Hex-NO_2]^+$ | 312.0597 | 3.1 | | | |
| | | | $[M-H]^-$ | 518.0943 | 0.3 | | | |
| | | | $[M-H+HCOO]^-$ | 564.0983 | 1.2 | | 518 | |
| | | | $[2M-H]^-$ | 1037.1935 | 1.8 | | 518, 356, 309 | |
| 6 | 29.1 | 243, 259, 293, | $[M+H]^+$ | 442.1127 | 0.6 | $C_{22}H_{19}NO_9$ | 424, 406, 388, 346, 322, 292, 280 | АЛ Ia-глюкозид |
| | | 330, 402 | $[M+H-Hex]^+$ | 280.0634 | 3.0 | | | |
| | | | $[M-H]^-$ | 440.0987 | 0 | | 278, 250 | |
| | | | $[M-H+HCOO]^-$ | 486.1047 | 0.5 | | | |
| | | | $[2M-H]^-$ | 881.2042 | 0.5 | | 440, 278 | |
| 7 | 31.7 | 231, 264, 278, | $[M+H]^+$ | 428.1375 | 3.5 | $C_{22}H_{21}NO_8$ | 410, 392, 374, 332, 308, 266 | АЛ FI/AII-глюкозид |
| | | 288, 330, 374, | $[M+H-Hex]^+$ | 266.0789 | 2.3 | | | |
| | | 393 | $[M-H+HCOO]^-$ | 472.1258 | 0.9 | | | |
| 8 | 33.1 | 240, 259, 298, | $[M+H]^+$ | 456.1267 | 2.2 | $C_{23}H_{21}NO_9$ | 438, 420, 360, 336, 294 | АЛ I-глюкозид |
| | | 332, 395 | $[M+H-Hex]^+$ | 294.0747 | 1.4 | | | |
| | | | $[M-H+HCOO]^-$ | 500.1190 | 0.8 | | 454, 292 | |
| | | | $[M-H-Hex]^-$ | 292.0631 | 1.6 | | | |
| 9 | 36.1 | 256, 309, | $[M+NH_4]^+$ | 345.0714 | 0.3 | $C_{16}H_9NO_7$ | 282 | АК IIIa |
| | | 360-400sh | $[M+H-H_2O]^+$ | 310.0310 | 3.6 | | 266 | |
| | | | $[M+H-NO_2]^+$ | 282.0528 | 0.5 | | | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $[M-H]^-$ | 326.0300 | 0.6 | 280, 236, 206 | |
| | | | $[M-H-NO_2]^-$ | 280.0378 | 0.1 | | |
| | | | $[2M-H]^-$ | 653.0684 | 0.1 | 326 | |
| 10 | 37.9 | 234, 262, 276 | $[M+H]^+$ | 266.0795 | 0.7 | $C_{16}H_{11}NO_3$ 251, 179 | АЛ FI/AII |
| | | 286,315, 390 | $[M+H-CH_3]^+$ | 251.0596 | 1.9 | | |
| 11 | 38.8 | 223, 256, 333 | $[M+NH_4]^+$ | 375.0852 | 2.9 | $C_{17}H_{11}NO_8$ 358, 312 | АК IVa ** |
| | | 410 | $[M+H-H_2O]^+$ | 340.0443 | 0.9 | 296, 281, 270 | |
| | | | $[M+H-NO_2]^+$ | 312.0602 | 2.6 | 297 | |
| | | | $[M-H]^-$ | 356.0406 | 0.6 | 310, 266 | |
| | | | $[M-H-NO_2]^-$ | 310.0503 | 2.0 | 266 | |
| | | | $[2M-H]^-$ | 713.0881 | 1.6 | 356, 310, 266 | |
| 12 | 45.0 | 220, 251, 300, | $[M+NH_4]^+$ | 329.0773 | 0.5 | $C_{16}H_9NO_6$ 294, 268 | АК II ** |
| | | 360sh | $[M+Na]^+$ | 334.0300 | 2.2 | 294 | |
| | | | $[M+H-H_2O]^+$ | 294.0365 | 3.2 | 222, 192, 166 | |
| | | | $[2M-2H+Na]^-$ | 643.0621 | 1.5 | 379, 266, 236 | |
| 13 | 46.0 | 240, 259, 298, | $[M+H]^+$ | 294.0735 | 2.6 | $C_{17}H_{11}NO_4$ 279, 251 | АЛ I |
| | | 328, 396 | $[M+H-CH_3]^+$ | 279.0563 | 3.7 | 251, 195 | |
| 14 | 46.6 | 229, 250, 321, | $[M+NH_4]^+$ | 359.0905 | 3.1 | $C_{17}H_{11}NO_7$ 324, 298, 268 | АК I ** |
| | | 393 | $[M+Na]^+$ | 364.0439 | 1.1 | 318 | |
| | | | $[M+H-H_2O]^+$ | 324.0502 | 0.1 | 280, 265, 237, 222 | |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $[2M-2H+Na]^-$ | 703.0793 | 2.5 | | 296 | |
| 15 | 47.0 | 223, 255, 327, 406 | $[M+Na]^+$ | 394.0519 | 1.4 | $C_{18}H_{13}NO_8$ | 348 | AK IV |
| | | | $[M+H]^+$ | 372.0686 | 2.8 | | | |
| | | | $[M+H-H_2O]^+$ | 354.0619 | 1.1 | | 310, 295, 266, 252, 222 | |
| | | | $[2M-2H+Na]^-$ | 763.1023 | 0.6 | | 326 | |

* Номера соединений в таблице повторяют номера на рисунках 1–3.

** Соединение идентифицировано в сравнении со стандартным образцом.

Аристолохиевые кислоты присутствовали в наших образцах в основном в свободной форме, это АК IIIa, АК IVa, АК II, АК I и АК IV. А также были найдены две гликозилированные кислоты – АК-IIIa-глюкозид и АК IVa/IVb-глюкозид. Аристолактамы в наших образцах находились в основном в форме глюкозидов: АЛ IIIa-глюкозид и его изомер, АЛ Ia-глюкозид, АЛ FI/AII-глюкозид, АЛ I-глюкозид. Два свободных лактама были идентифицированы – АЛ FI/AII и АЛ I. В табл. 1 суммированы данные ВЭЖХ-УФ-МС обнаружения алкалоидов у P и M 8 видов растений *Aristolochia*. Результаты полуколичественной оценки содержания алкалоидов представлены в мг/г сухого веса для магнофлорина и АК I, и в мг-эквивалентах АК I/г сухого веса для остальных фенантреновых алкалоидов (табл. 2 и 3), далее по тексту – мг/г.

Таблица 2. Содержание алкалоидов (мг/г сухого веса, для фенантреновых алкалоидов результаты представлены в мг-экв АК I/г сухого веса) в растениях *Aristolochia* (секция *Diplolobus*) *ex situ* (P) и *in vitro* (M)

Table 2. Alkaloid content (mg/g dry weight; for phenanthrene alkaloids, results are expressed as mg AK I equivalent/g DW) in *Aristolochia* plants (section Diplolobus) *ex situ* (P) and *in vitro* (M)

| N | Соединения | *A. baetica* | | *A. contorta* | | *A. rotunda* | | *A. tuberosa* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | P | M | P | M | P | M | P | M |
| 1 | Магнофлорин | — | 0.47 ± 0.06** | 0.09.±.0.00 | 2.01 ± 0.13** | — | 1.24 ± 0.12** | 0.15 ± 0.15 | 0.34 ± 0.04 |
| 2 | АЛ IIIa-глюкозид (изомер1) | — | — | — | 0.035 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.07 ± 0.03 | 0.02 ± 0.02 | 0.022 ± 0.01 |
| 3 | АЛ IIIa-глюкозид (изомер2) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 4 | АК-IIIa-глюкозид | — | — | — | 0.47 ± 0.01** | 3.54 ± 1.8 | 0.20 ± 0.03 | 0.14 ± 0.01 | 0.29 ± 0.05 |
| 5 | АК IVa/IVb-глюкозид | — | — | 0.02 ± 0.00 | 0.45 ± 0.03** | 0.62 ± 0.33 | 0.13 ± 0.01 | 0.04 ± 0.03 | 0.14 ± 0.02* |
| 6 | АЛ Ia-глюкозид | — | — | 0.01 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.21 ± 0.03 | 0.10 ± 0.01* | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 |
| 7 | АЛ FI/AII-глюкозид | — | — | — | — | — | — | 0.04 ± 0.02 | 0.08 ± 0.00 |
| 8 | АЛ I-глюкозид | — | — | — | — | 0.18 ± 0.03 | 0.19 ± 0.01 | 0.00 ± 0.00 | — |
| 9 | АК IIIa | — | — | 0.07 ± 0.04 | 0.41 ± 0.02** | 0.639 ± 0.31 | 0.55 ± 0.16 | 0.24 ± 0.01 | 0.71 ± 0.18 |
| 10 | АЛ FI/AII | — | — | — | — | — | — | 0.03 ± 0.03 | 0.16 ± 0.18* |
| 11 | АК IVa | — | — | 0.43 ± 0.25 | 0.62 ± 0.04 | 0.15 ± 0.08 | 0.28 ± 0,03 | 0.09 ± 0.00 | |
| 12 | АК II | 0.345 ± 0.03 | 0.18 ± 0.01** | | 0.36 ± 0.02** | 7.12 ± 0.60 | 3.75 ± 0.35** | 4.63 ± 1.33 | 6.32 ± 0.21 |
| 13 | АЛ I | — | — | 0.04 ± 0.04 | — | 0.11 ± 0.04 | 0.04 ± 0.00 | — | — |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14 | АК I | 0.34 ± 0.05 | 0.43 ± 0.01 | | 1.03 ± 0.01* | 2.14 ± 0.10 | 2.99 ± 0.12** | 1.59 ± 0.35 | 2.36 ± 0.25 |
| 15 | АК IV | 0.00 ± 0.00 | — | — | — | 0.08 ± 0.08 | 0.26 ± 0.03 | — | — |

Примечание: * – достоверность $P < 0.05$ по отношению к контролю; ** – достоверность $P < 0.01$ по отношению к контролю. — соединение не обнаружено.

Note: * – significance $P < 0.05$ compared to the control; ** – significance $P < 0.01$ compared to the control. — no compound detected.

Таблица 3. Содержание алкалоидов (мг/г сухого веса, для фенантреновых алкалоидов результаты представлены в мг-экв АК I/г сухого веса) в растениях *Aristolochia* (секции *Gymnolobus* и *Siphisia*) *ex situ* (G) и *in vitro* (M)

Table 3. Alkaloid content (mg/g dry weight; for phenanthrene alkaloids, results are expressed as mg AK I equivalent/g DW) in *Aristolochia* plants (sections *Gymnolobus* and *Siphisia*) *ex situ* (P) and *in vitro* (M)

| N | Соединения | *A. fimbriata* | | *A. gigantea* | | *A. californica* | | *A. manshuriensis* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | P | M | P | M | P | M | P | M |
| 1 | Магнофлорин | — | 0.69 ± 0.20* | — | — | — | — | 0.11 ± 0.02** | — |
| 2 | АЛ IIIa-глюкозид (изомер1) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 3 | АЛ IIIa-глюкозид (изомер2) | — | — | — | — | — | 0.01 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.08 ± 0.01** |
| 4 | АК-IIIa-глюкозид | — | — | — | — | — | — | 0.50 ± 0.00 | 0.05 ± 0.01** |
| 5 | АК IVa/IVb-глюкозид | — | 0.16 ± 0.20** | — | 0.03 ± 0.00** | — | 0.02 ± 0.01 | 0.28 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00** |
| 6 | АЛ Ia-глюкозид | 0.041 | 0.04 ± 0.01 | — | — | 0.010 | 0.04 ± 0.01* | — | 0.02 ± 0.00** |
| 7 | АЛ FI/AII-глюкозид | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 | АЛ I-глюкозид | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 9 | АК IIIa | — | — | — | 0.03 ± 0.01* | — | 0.03 ± 0.00 | 0.07 ± 0.00 | 0.03 ± 0.01* |
| 10 | АЛ FI/AII | — | 0.14 ± 0.01 | — | — | — | — | | |
| 11 | АК IVa | — | 0.18 ± 0.01** | 0.01 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00** | — | 0.02 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.02 ± 0.01 |
| 12 | АК II | — | — | 0.01 ± 0.00 | 0.20 ± 0.01** | 0.446 | 1.18 ± 0.16 | 0.41 ± 0.00 | 2.33 ± 0.15** |
| 13 | АЛ I | 0.066 | — | — | — | — | — | — | — |
| 14 | АК I | 0.179 | 0.31 ± 0.05 | 0.00 ± | 0.33 ± | 0.717 | 1.05 ± 0.17 | 0.50 ± 0.00 | 2.31 ± |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 0.00 | 0.02** | | | | 0.16** |
| 15 | АК IV | 0.078 | — | — | 0.04 ± 0.00** | 0.052 | 0.09 ± 0.00 | 0.07 ± 0.00 | 0.22 ± 0.01** |

Примечание: * – достоверность $P < 0.05$ по отношению к контролю; ** – достоверность $P < 0.01$ по отношению к контролю. — соединение не обнаружено.

Note: * – significance $P < 0.05$ compared to the control; ** – significance $P < 0.01$ compared to the control. — no compound detected.

Анализ состава метаболических профилей экстрактов показал, что виды отличаются по их разнообразию (табл. 2). Для *A. rotunda* для обеих сравниваемых групп (Р и М) выявлено наибольшее качественное разнообразие веществ (12 из 15 веществ составили 80%). Сходное разнообразие состава показано у *A. tuberosa* (73.3%) для Р и 67% в экстрактах М. Чуть меньшее число веществ отмечено у растений для обеих сравниваемых групп *A. manshuriensis* и М у *A. contorta* (60%). Минимальное разнообразие веществ определено у Р для *A. gigantea* и *A. baetica* (20%) и его микроклонов.

Анализ качественного состава веществ по принадлежности видов к секциям показал, что АЛ IIIa-глюкозид (изомер 1) обнаружен только у представителей *Diplolobus* за исключением *A. baetica.* В то же время АЛ IIIa-глюкозид (изомер 2) выявлен у представителей секции *Siphisia* (*A. manshuriensis, A. californica*). АК-IIIa-глюкозид у представителей секции *Gymnolobus* (*A. fimbriata, A. gigantea*), *A. baetica* и *A. californica* отсутствует. Для подтверждения наблюдения о секционной специфичности необходимо расширение эксперимента на другие виды рода из тех же и смежных секций.

Jou с соавт. [19] в стеблях *A. contorta* выявили АК IVa, АК II, АК I, АК IV. Наши данные подтверждают ранее полученные результаты. По данным Ji с соавт. [20] у *A. contorta* выявлены АК I, АК II, АК IIIa, АК IVa, АК VIIa, АЛ I, АЛ AII, АЛ I *N*-глюкозид, АЛ IIIa *N*-глюкозид и АЛ Ia *N*-глюкозид. Интересно отметить, что в нашем эксперименте у Р не определены АК I, АК II, АК VIIa, АЛ AII, АЛ I *N*-глюкозид, АЛ IIIa *N*-глюкозид. Вещества АК I и АК II выявлены только у М, для данной группы отмечено большее разнообразие веществ (табл. 2), что соответствует ранее полученным данным [20].

По данным Kuo с соавт. [7], у *A. gigantea* из корней выделены: магнофлорин и несколько АЛ, которые в нашем эксперименте не идентифицированы.

Ранее АК I, АК II, АК IIIa, АК IV, аристолозид, аристоламиды, аристолактамы и алкалоиды, такие как магнофлорин были идентифицированы как основные химические компоненты *A. manshuriensis*. Из стеблей *A. manshuriensis* выделены АК I, АК IIIa, АК IVa, АЛ IIIa [7]. В культуре корневых волосков *A. manshuriensis*, трансформированных генами онкогенных локусов (rol)B и rolC *Agrobacterium rhizogenes,* были выделены четыре аристолохиевые кислоты: АК IIIa, АК IVa/b, АК IIIa *O*-глюкозид (АК IIIa-G) и АК-IVa/b *O*-глюкозид (АК-IVa/b-G) [18]. Нами для вида идентифицированы все кислоты как в Р, так и в М (табл. 3).

По нашим данным профили алкалоидов в экстрактах М и Р у большинства исследованных видов совпадают. Но в целом для М отмечено бóльшее разнообразие

веществ по сравнению с Р. Вещество АК I выявлено у всех исследованных видов в двух группах, кроме группы Р у *A. contorta.* АК II является вторым по встречаемости веществом у проанализированных видов, отсутствующим у *A. fimbriata* и группы Р у *A. contorta.*

Магнофлорин присутствовал главным образом в группе М у 5 из 8 исследованных видов (табл. 2, 3). Он выявлен у двух групп *A. tuberosa* и *A. contorta,* отмечен только в растения *ex situ* (Р) у *A. manshuriensis.* АК IVa/IVb-глюкозид показан в двух исследованных группах (М и Р) *A. contorta, A. rotunda, A. tuberosa, A. manshuriensis.* У *A. californica, A. gigantea* и *A. fimbriata* данное вещество определено только у М. Вещества АЛ FI/AII и его глюкозид отмечены у *A. fimbriata* и *A. tuberosa*, соответственно.

Ранее было показано, что содержание метаболитов в растениях зависит от многих факторов, таких как сорт, погода, географическое местоположение, дневной свет, состояние почвы, температура, водный стресс, время сбора урожая [21]. В нашем эксперименте растения в горшках и микроклоны произрастали в одинаковых для каждой группы условиях, отличались онтогенетическим состоянием, следовательно, полученные результаты по качественному составу отражают видовую специфичность.

По количественному накоплению метаболитов виды отличались между собой (табл. 2, 3, рис. 4 и 5). В таблицах 2 и 3 данные представлены при попарном сравнении групп Р и М внутри вида. Выявлены тренды: концентрации АК-I и АК-II в М статистически значимо превышали таковые в Р у *A. contorta, A. gigantea* и *A. manshuriensis* ($P < 0.05$ и $P < 0.01$). У *A. fimbriata, A. californica* и *A. tuberosa* также наблюдали повышение концентраций данных кислот в условиях *in vitro*, однако различия не достигли уровня статистической значимости ($P > 0.05$), что, вероятно, связано с высокой вариабельностью показателей (рис. 5).

**Рис. 4**. Суммарное содержание аристолохиевых кислот (А) и аристолактамов (Б) в экстрактах листьев растений (▨) и микроклонов (▩).

**Fig. 4.** Total content of aristolochic acids (A) and aristolactams (B) in extracts from the leaves of plants (▨) and microclones (▩).

**Рис. 5**. Массовая доля аристолохиевых кислот видов рода *Aristolochia* у растений *ex situ.*

**Fig. 5.** Mass fraction of aristolochic acids in *Aristolochia* species grown *ex situ.*

Наибольшие содержание АК II выявлено в обеих исследованных группах *A. rotunda* и *A. tuberosa* (табл. 2, рис. 5). При этом концентрация вещества у Р *A. rotunda* почти в 2 раза ($P < 0.01$) превышала значения параметра у М. У *A. tuberosa* разница в количественном содержании АК II у двух групп не подтверждена статистически. Аналогичные результаты показаны для АК I у данных видов. Средние значения показателя веществ (в 3 раза ниже) выявлены у микроклонов *A. californica.* У *A. baetica, A. manshuriensis, A. californica* (растения *ex situ* – Р). Только у растений *ex situ* (Р) *A. gigantea* и микроклонов (М) *A. fimbriata* концентрации низкие и носят следовой характер.

Количественный анализ остальных 13 идентифицированных веществ показал, что их концентрации были ниже. Максимальные значения содержания показаны для АК IIIa-глюкозида в группе Р *A. rotunda*. Статистический анализ выявил достоверные различия в концентрациях веществ внутривидовых групп (табл. 2 и 3).

По данным Jou с соавт. [19] в корнях *A. contorta* концентрации веществ, среди которых несколько АК, составили: АК IVa 19.1%, АК II 16.3%, АК I 24%, АК IV 28.8%. По нашим данным АК IVa составила 0.04% (0.43 мг/л) у Р и 0.06% (0.62 мг/л) у М; АК II и АК I выявлены только у М, в более низких концентрация, составивших 0.04% (0.358 мг/г сухого веса) и 0.1% (1.033 мг/г сухого веса), соответственно. В тоже время более низкие концентрации веществ подтверждают ранее высказанное наблюдение о зависимости концентраций вторичных метаболитов от разных условий, среди которых особенности произрастания.

По данным [18] в стебле *A. manshuriensis* содержание АК-I составило 1.23 мг/г (сухого веса), что в 2.46 раза выше, содержания в листьях Р и 1.9 ниже, чем в М *A. manshuriensis* в нашем эксперименте. В тоже время содержание АК-II в стебле *A. manshuriensis* составили 0.34 мг/г (сухого веса) [18], что в 1.46 и 6.8 раза ниже, чем в Р и М *A. manshuriensis,* соответственно.

Показано, что концентрация АК-I и АК-II в растениях варьирует и зависит от вида, региона и сезона. Кроме того, концентрация в некоторой степени изменяется из-за различных метаболических путей и факторов окружающей среды [22]. В нашем эксперименте выявлена сходная тенденция в суммарной концентрации АК.

Суммарное содержание АК и АЛ (∑АК и ∑АЛ, соответственно) представлено на рис. 4. Максимальными значениями суммы веществ характеризуется *A. rotunda,* минимальными *A. gigantea.* Отмечено преобладание концентраций АК в группе М, кроме

видов *A. baetica*, *A. rotunda* и *A. tuberosa*. Вероятно, культивирование на питательной среде активирует экспрессию генов ферментов биосинтетического пути нитрофенантреновых кислот в группе М.

Попарные сравнения видов по ∑АК показали выраженные межвидовые различия. Наиболее высокие значения ∑АК характеризовали *A. manshuriensis* и *A. tuberosa*; различия между этими видами статистически незначимы (Mean Difference = 1.313; p_Tukey = 0.591). *A. rotunda* характеризовалась промежуточным уровнем накопления АК и достоверно отличалась от видов с более низкими значениями ∑АК; в частности, при сравнении с *A. gigantea* разность средних составила 1.742 (p_Games–Howell < 0.001). К видам с низкими значениями ∑АК относились *A. baetica*, *A. californica*, *A. contorta*, *A. fimbriata* и *A. gigantea*, у которых основные кислоты либо отсутствуют, либо детектируются в следовых количествах. Межвидовые вариации внутри этого кластера статистически не значимы ($P > 0.05$).

В группе М у *A. contorta* отмечена максимальная концентрация магнофлорина, в то время как в листьях Р *A. contorta* и *A. manshuriensis* – она минимальная. Ранее в культуре корневых волосков *A. manshuriensis*, трансформированных генами онкогенных локусов *rolB* и *rolC Agrobacterium rhizogenes*, накопление магнофлорина достигло 5.72 мг/г сухого веса, что в 5.8 раза выше, чем в контрольных каллусах, и в 1.7 раза выше, чем у дикорастущей лианы [18].

Таким образом, была выявлена достоверная разница в содержании вторичных метаболитов у растений, произрастающих в условиях *ex situ*, и микроклонов, полученных *in vitro*. Наибольшие концентрации АК, показанные для *A. rotunda* и *A. tuberosa*, определяют данные виды, как наиболее опасные для лекарственного применения. В тоже время отсутствие АК или их незначительные количества способствуют применению видов *A. fimbriata*, *A. gigantea*, как потенциально лекарственных. Поскольку в М у видов *A. contorta*, *A. gigantea* диагностировано наличие канцерогенных АК (АК I и АК II), отсутствующие у растений в группе Р, использование их биомассы в качестве лекарственного сырья может быть сопряжено с риском развития аристолохиевой кислотной нефропатии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. *Das S., Thakur S., Korenjak M. et. al*. Aristolochic acid-associated cancers: a public health risk in need of global action // Nat Rev Cancer. 2022. Vol. 22. No. 10. P. 576–591. https://doi.org/10.1038/s41568-022-00494-x
2. *Anger E.E., Yu F., Li J.* Aristolochic acid-induced nephrotoxicity: molecular mechanisms and potential protective approaches // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21. No. 3. P. 1157. https://doi.org/10.3390/ijms21031157
3. *Lerma-Herrera M.A., Beiza-Granados L., Ochoa-Zarzosa A. et. al*. Biological activities of organic extracts of the genus *Aristolochia*: a review from 2005 to 2021 // Molecules. 2022. Vol. 27. No. 12. P. 3937. https://doi.org/10.3390/molecules27123937
4. *Han J., Xian Z., Zhang Y., Liu J., Liang A.* Systematic overview of aristolochic acids: nephrotoxicity, carcinogenicity, and underlying mechanisms // Frontiers in Pharmacology. 2019. Vol. 10. P. 648. https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00648
5. *Zhang H M., Zhao X.H., Sun Z.H., Li G.C., Liu G.C. et. al*. Recognition of the toxicity of aristolochic acid // J. Clin. Pharm. Ther. 2019. Vol. 44. No. 2. P. 157–162. https://doi.org/10.1111/jcpt.12789
6. *Padhy G.K.* A review of *Aristolochia indica*: Ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological and toxicological effects // Curr. Tradit. Med. 2021. Vol. 7. No. 3. P. 372–386. https://doi.org/10.2174/2215083806666200831173828
7. *Kuo P.C., Li Y.C., Wu T.S.* Chemical constituents and pharmacology of the *Aristolochia* (馬兜鈴 mădōu ling) species // J. Tradit. Complementary Med. 2012. Vol. 2. No. 4. P. 249–266. https://doi.org/10.1016/S2225-4110(16)30111-0
8. *Cui X., Meng F., Pan X. et. al*. Chromosome-level genome assembly of *Aristolochia contorta* provides insights into the biosynthesis of benzylisoquinoline alkaloids and aristolochic acids // Hortic. Res. 2022. Vol. 9. uhac005. https://doi.org/10.1093/hr/uhac005
9. *Liu W., Shao F., You X. et. al*. Non-carcinogenic/non-nephrotoxic aristolochic acid IVa exhibited anti-inflammatory activities in mice // J. Nat. Med. 2023. Vol. 77. No. 2. P. 251–261. https://doi.org/10.1007/s11418-022-01665-8
10. *Lu Z.N., Luo Q., Zhao L.N., Shi Y., Wang N., Wang L., Han Z.G.* The mutational features of aristolochic acid–induced mouse and human liver cancers // Hepatology. 2020. Vol. 71. No. 3. P. 929–942. https://doi.org/10.1002/hep.30863

11. *Tung K.K., Chan C.K., Zhao Y. et. al*. Occurrence and environmental stability of aristolochic acids in groundwater collected from Serbia: links to human exposure and Balkan endemic nephropathy // Environ. Sci. Technol. 2020. Vol. 54. No. 3. P. 1554–1561. https://dx.doi.org/10.1021/acs.est.9b05337
12. *Iqbal E., Lim L. B., Salim K.A. et. al*. Isolation and characterization of aristolactam alkaloids from the stem bark of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) and their biological activities // J. King Saud University–Science. 2018. Vol. 30. No. 1. P. 41–48. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.12.008
13. *Reddy M.C., Dey A., Jeganmohan M., Padala K.* The isolation-biological activities (2014–2022), bio, semi, total synthesis (1978–2022) and SAR studies of a potential naturally engineered scaffold aristolactam // New J. Chem. 2023. Vol. 47. No. 35. P. 16266–16307. https://doi.org/10.1039/d3nj02565a
14. *Grigorchuk V.P., Nakonechnaya O.V., Grishchenko O.V., Bezdelev A.B.* Phenological Fluctuations of Secondary Metabolites in *Dracocephalum charkeviczii* // Russ. J. Plant Physiol. 2023. Vol. 70. No. 7. P. 173–179. https://doi.org/10.1134/S1021443723603129
15. *Nakonechnaya O.V., Gafitskaya I.V., Grigorchuk V.P. et. al*. Polyphenol composition of *Dracocephalum charkeviczii* Prob. plants in *in situ* and *in vitro* conditions // Russ. J. Plant Physiol. 2022. Vol. 69. P. 27. https://doi.org/10.1134/S1021443722010149
16. *Yu J., Ma C.M., Wang X. et. al*. Analysis of aristolochic acids, aristololactams and their analogues using liquid chromatography tandem mass spectrometry // Chin. J. Nat. Med. 2016. Vol. 14. No. 8. P. 626–640. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30074-7
17. *Mao W.W., Gao W., Liang Z.T. et. al*. Characterization and quantitation of aristolochic acid analogs in different parts of Aristolochiae Fructus, using UHPLC-Q/TOF-MS and UHPLC-QqQ-MS // Chin. J. Nat. Med. 2017. Vol. 15. No. 5. P. 392–400. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30060-2
18. *Shkryl Y.N., Tchernoded G.K., Yugay Y.A. et. al*. Enhanced production of nitrogenated metabolites with anticancer potential in *Aristolochia manshuriensis* hairy root cultures // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol. 24. No. 14. P. 11240. https://doi.org/10.3390/ijms241411240
19. *Jou J.H., Li C.Y., Schelonka E.P., Lin C.H., Wu T.S.* Analysis of the analogues of aristolochic acid and aristolactam in the plant of *Aristolochia* genus by HPLC // J. Food Drug Anal. 2004. Vol. 12. No. 1. P. 40-45. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2668

20. *Ji H. J., Li J.Y., Wu S.F. et. al*. Two new aristolochic acid analogues from the roots of *Aristolochia contorta* with significant cytotoxic activity // Molecules. 2020. Vol. 26. No. 1. P. 44. https://doi.org/10.3390/molecules26010044

21. *Attou S., Meddah B., Meddah A.T.T. et. al*. Materials and methods collection and preparation of plant material *Aristolochia longa* leaves and roots were collected in Mach // J. Appl. Biotechnol. Rep. 2020. Vol. 7. No. 3. P. 166–170. https://doi.org/ 10.30491/JABR.2020.109897

22. *Ang L.P., Yen L.L., Kalusalingam A. et. al*. Determination of aristolochic acid using isocratic RP-HPLC method // Progress in Drug Discovery & Biomedical Science. 2021. Vol. 4, No. 1 https://doi.org/10.36877/pddbs.a0000234

*Сведения об авторах*

Елизавета Павловна Юсупова – инженер, Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН. Владивосток, Российская Федерация;
e -mail: *ve.foxhole@gmail.com*.

Григорчук Валерия Петровна – н.с. Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН. Владивосток, Российская Федерация;
e -mail: *kera1313@mail.ru.*

Наконечная Ольга Валериевна – к.б.н., с.н.с. Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН. Владивосток, Российская Федерация;
e -mail: *markelova@biosoil.ru*.
https://orcid.org/0000-0002-9825-277X

*Author information*

Yusupova Elizaveta Pavlovna – Engineer, Senior Researcher, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation.
e -mail: *ve.foxhole@gmail.com*
https://orcid.org/ 0009-0004-7225-4138

Grigorchuk Valeriya Petrovna – research fellow, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation.
e -mail: *kera1313@mail.ru*.
https://orcid.org/0000-0002-9733-532X

Nakonechnaya Olga Valerievna – PhD in Biology, Senior Researcher, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation.
e-mail: markelova@biosoil.ru
https://orcid.org/0000-0002-9825-277X

Поступила в редакцию 21.08.2026

После доработки 16.09.2026
Принята к публикации 21.09.2026

Received August 21, 2026
Revised September 16, 2026
Accepted September 21, 2026

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ

**Рис. 1**. Хроматографические профили ВЭЖХ-УФ анализов водно-метанольных экстрактов листьев растений (А) и микроклонов (Б) *A. contorta*, зарегистрированные при $\lambda$ = 254 нм. Нумерация пиков соответствует представленной в таблице 1.

**Fig. 1.** Chromatographic profiles of HPLC-UV analysis of methanol extracts from leaves of *A. contorta* plants (A) and microclones (B), respectively, recorded at λ = 254 nm. Peak numbering corresponds to that presented in Table 1.

**Рис. 2**. Хроматографические профили ВЭЖХ-УФ анализов водно-метанольных экстрактов листьев растений (А) и микроклонов (Б) *A. fimbriata*, зарегистрированные при $\lambda$ = 254 нм. Нумерация пиков соответствует представленной в таблице 1.

**Fig. 2.** Chromatographic profiles of HPLC-UV analysis of methanol extracts from leaves of *A. fimbriata* plants (A) and microclones (B), respectively, recorded at λ = 254 nm. Peak numbering corresponds to that presented in Table 1.

**Рис. 3**. Хроматографические профили ВЭЖХ-УФ анализов водно-метанольных экстрактов листьев растений (А) и микроклонов (Б) *A. rotunda*, зарегистрированные при $\lambda$ = 254 нм. Нумерация пиков соответствует представленной в таблице 1.

**Fig. 3.** Chromatographic profiles of HPLC-UV analysis of methanol extracts from leaves of *A. rotunda* plants (A) and microclones (B), respectively, recorded at λ = 254 nm. Peak numbering corresponds to that presented in Table 1.

**Рис. 4**. Суммарное содержание аристолохиевых кислот (А) и аристолактамов (Б) у листьев растений (▨)и микроклонов (▩).

**Fig. 4.** Total content of aristolochic acids (A) and aristolactams (B) in the leaves of plants (▨) and microclones (▩).

**Рис. 5**. Массовая доля аристолохиевых кислот видов рода *Aristolochia* у растений *ex situ.*

**Fig. 5.** Mass fraction of aristolochic acids in *Aristolochia* species grown *ex situ.*

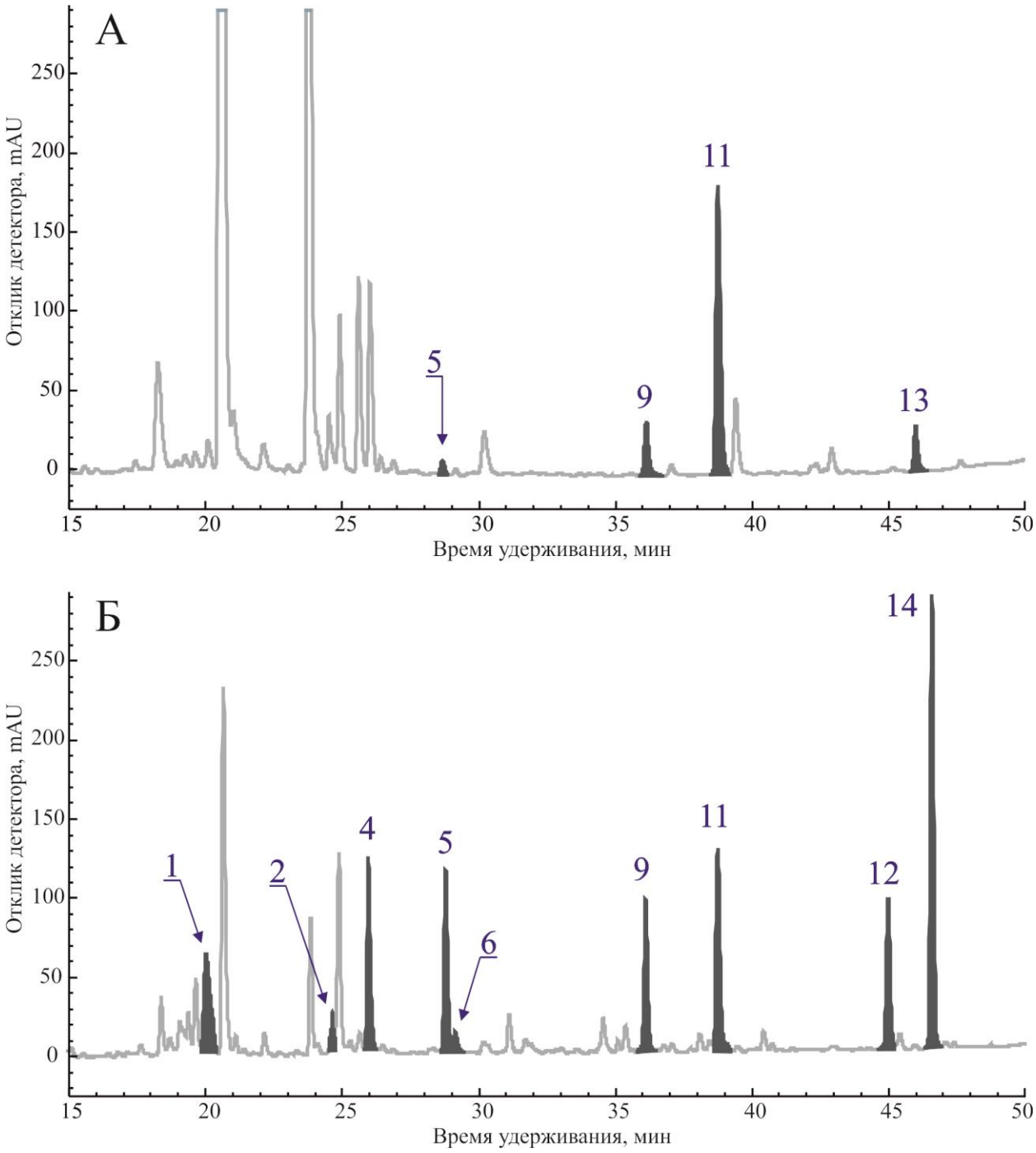



Рис. 1. Юсупова

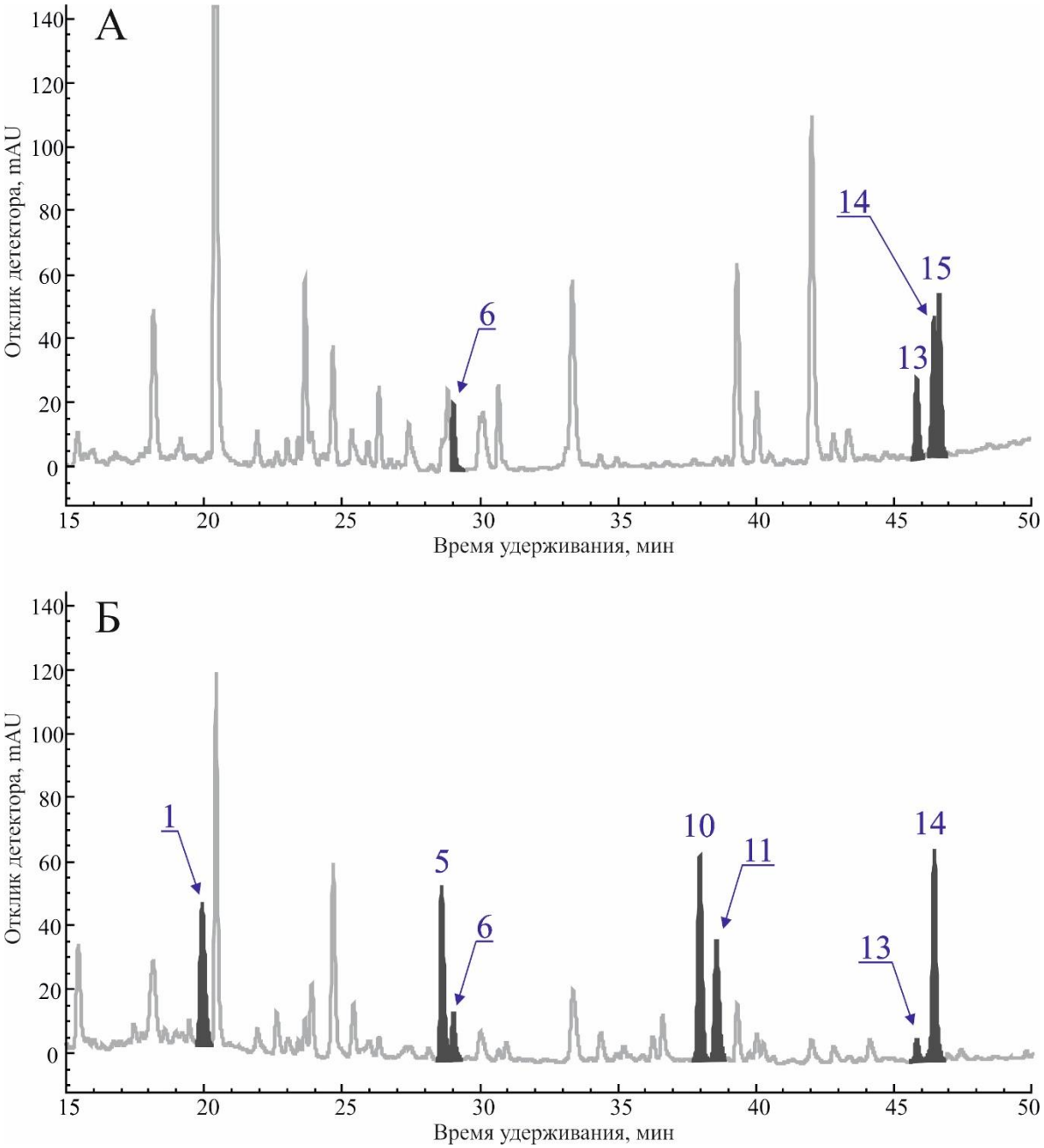



Рис. 2. Юсупова

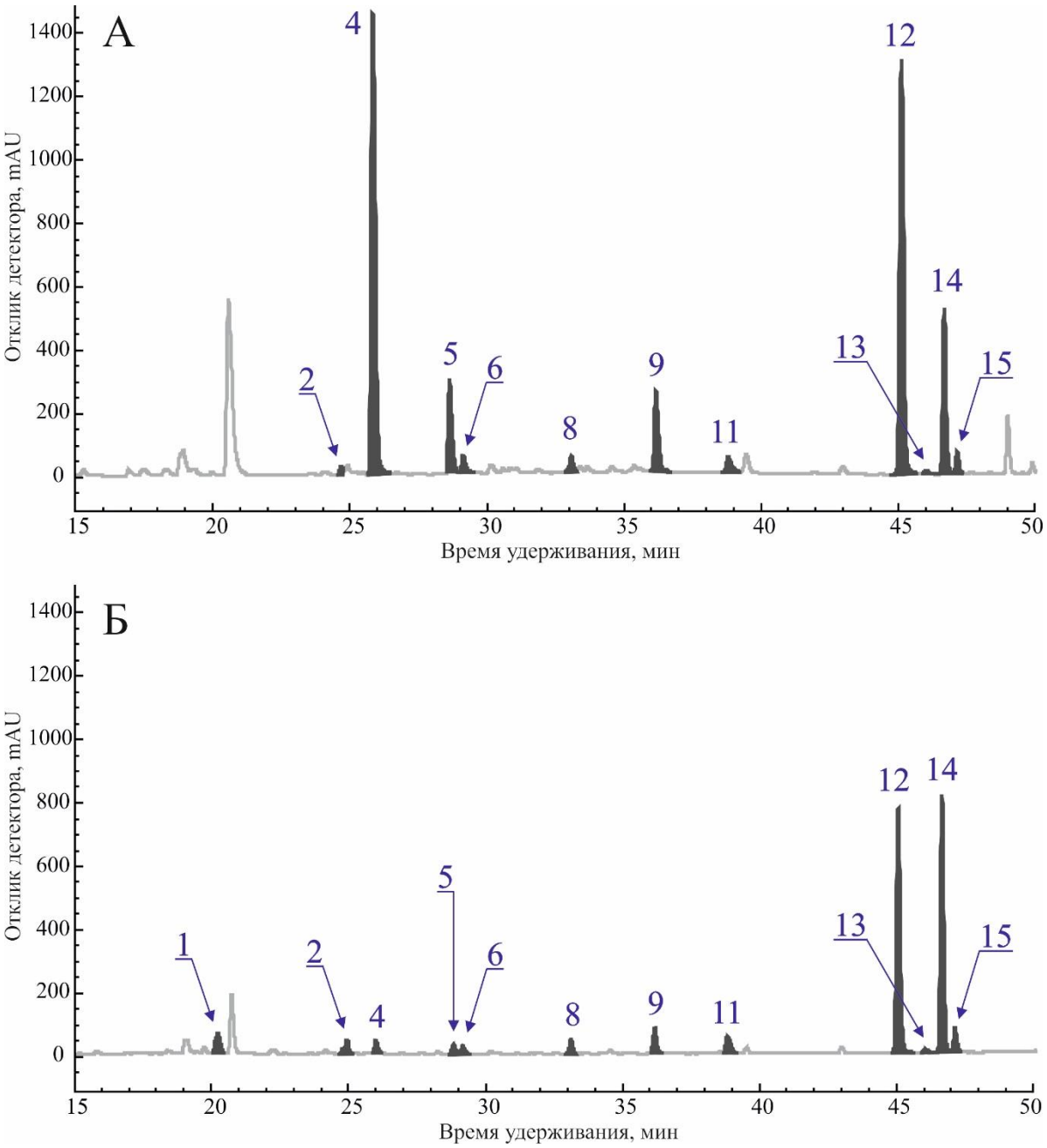



Рис. 3. Юсупова

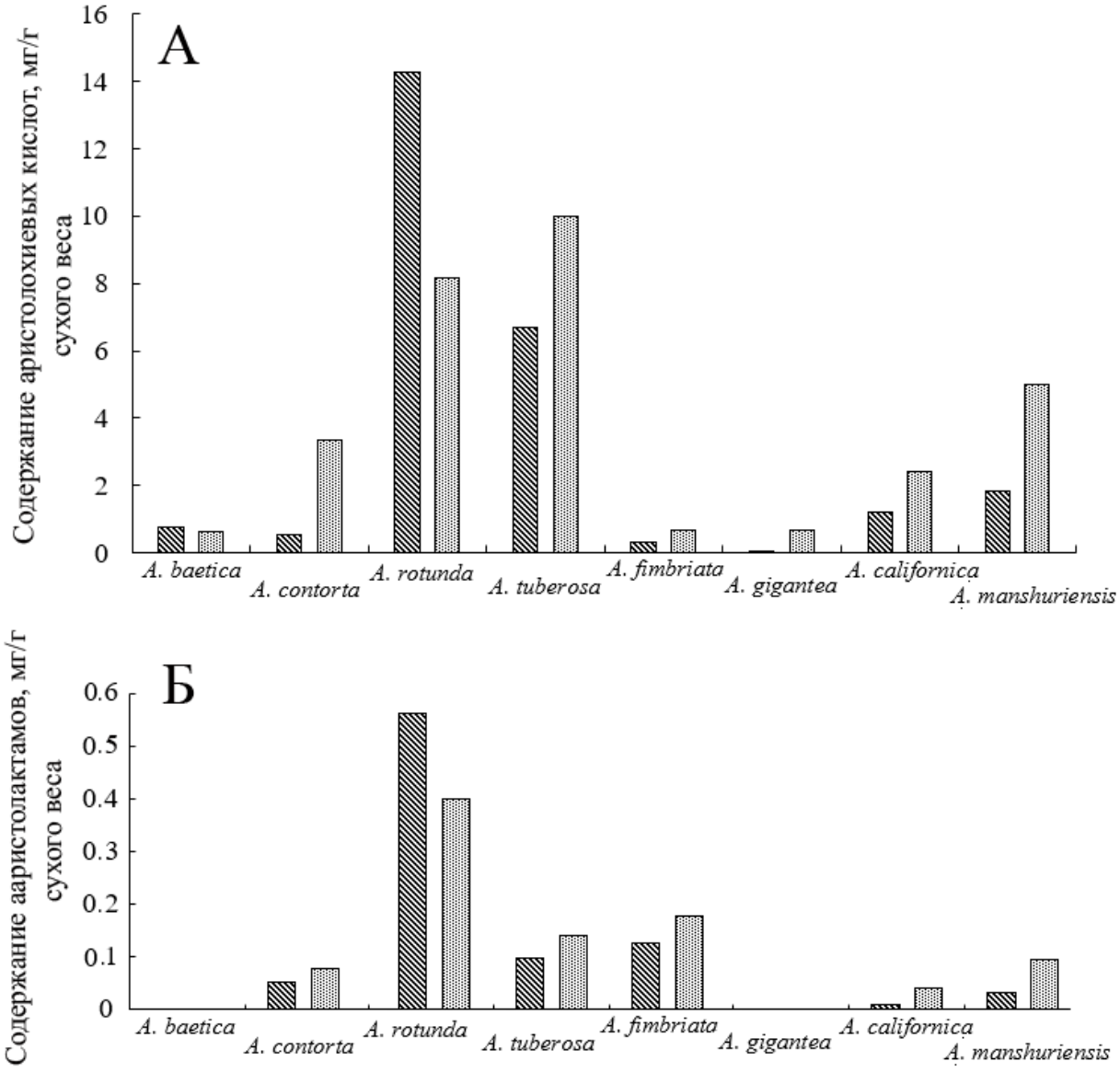



Рис. 4. Юсупова

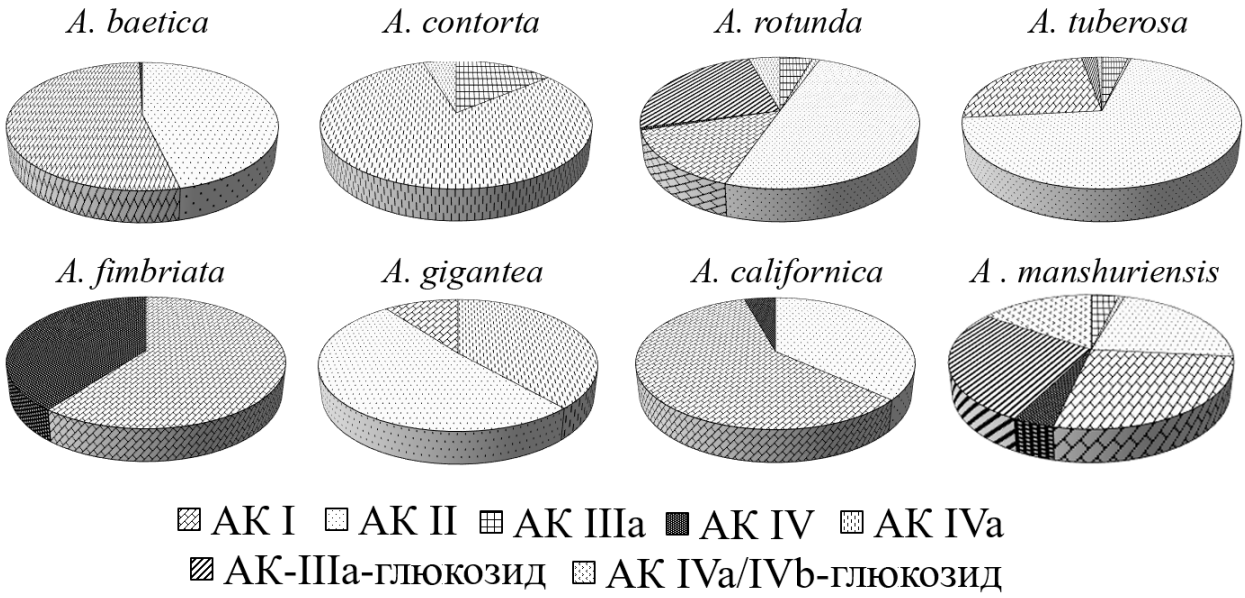



Рис. 5. Юсупова