

Оригинальная статья / Original article

УДК 664.8 + 634.11

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-613-626>



## Исследование потенциальных антиканцерогенных и антиоксидантных эффектов экстрактов из растительного сырья

© Н.Б. Еремеева, Н.В. Макарова,  
Д.Ф. Игнатова, В.В. Бахарев

Самарский государственный технический университет,  
г. Самара, Российская Федерация

**Резюме:** Одним из основных этиологических факторов возникновения некоторых видов злокачественных опухолей является наличие в организме хронических воспалительных процессов. В ряде медицинских исследований для противовоспалительных лекарственных средств показан антиканцерогенный эффект относительно рака толстого кишечника. Кроме того, имеются данные о взаимосвязи антиканцерогенной и антиоксидантной активностей некоторых биологически активных веществ, присутствующих в лекарственных растениях. В настоящей работе исследованы потенциальные антиканцерогенные эффекты экстрактов, полученных из растительного сырья: брусники (*Vaccinium vitis-idaea*), малины (*Rubus idaeus*), черноплодной рябины (*Aronia melanocarpa*), семян винограда (*Vitis L.*), выжимок винограда (*Vitis L.*), зеленого Краснодарского чая (*Camellia sinensis*), женьшеня (*Panax L.*), иван-чая (*Chamaenerion angustifolium*) и кофе (*Coffea arabica*). Оценено влияние данных экстрактов на рост и жизнеспособность клеток рака толстого кишечника линии HCT-116 *in vitro* с помощью МТТ-теста, а также влияние нетоксических доз экстрактов на базальный и индуцированный уровень экспрессии провоспалительных генов: циклооксигеназы (COX2); индуцируемой NO-синтазы (iNOS); интерлейкина 8 (IL8), методом количественной полимеразной цепной реакции. Определены рабочие концентрации исследуемых экстрактов для клеток HCT-116. Продемонстрировано, что все исследуемые экстракты способны снижать экспрессию провоспалительных генов COX-2, iNOS и IL-8. Наиболее выраженным суммарным ингибирующим действием на экспрессию данных генов обладают экстракты черноплодной рябины и иван-чая. Данные экстракты рекомендуется использовать в дальнейших исследованиях влияния на индуцированную экспрессию генов COX-2, iNOS и IL-8, а также в исследованиях антиканцерогенной активности *in vivo*. Антиоксидантная активность определена по методу DPPH и FRAP. Наибольшие значения по данным методикам показали экстракты черноплодной рябины, малины и иван-чая. Выявлена зависимость антиканцерогенной и антиоксидантной активностей.

**Ключевые слова:** воспаление, антиоксидантная активность, растительные экстракты, COX2, iNOS, IL-8, МТТ-тест, количественная полимеразная цепная реакция

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках государственного задания на проведение фундаментальных исследований № 0778-2020-0005.

**Для цитирования:** Еремеева Н.Б., Макарова Н.В., Игнатова Д.Ф., Бахарев В.В. Исследование потенциальных антиканцерогенных и антиоксидантных эффектов экстрактов из растительного сырья. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 4. С. 613–626. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-613-626>

## Study of potential anti-carcinogenic and antioxidant effects of plant extracts

Natalya B. Eremeeva, Nadezhda V. Makarova,  
Dinara F. Ignatova, Vladimir V. Bakharev

Samara State Technical University,  
Samara, Russian Federation,

**Abstract:** One of the main etiological factors in the development of some malignant tumours is the presence of chronic inflammatory processes. A number of biomedical studies have confirmed the anticarcinogenic effect of anti-inflammatory drugs with respect to colon cancers. In addition, some biologically active substances present in medicinal plants have been found to exhibit both anti-carcinogenic and antioxidant activity. In this paper, we investigate potential anticarcinogenic effects of extracts obtained from plant raw materials, including lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*), raspberry (*Rubus idaeus*), black chokeberry (*Aronia melanocarpa*), grape seeds (*Vitis L.*), grape pomace (*Vitis L.*), Krasnodar green tea (*Camellia sinensis*), ginseng (*Panax L.*), fireweed (*Chamaenerion angustifolium*) and coffee (*Coffea arabica*). The effect of these extracts on the growth and viability of colon HCT-116 cancer cells was assessed *in vitro* using the method of MTT assay. In addition, the effect of non-toxic doses of the extracts under study on the basal and induced levels of pro-inflammatory gene expression – cyclooxygenase (COX2), inducible NO synthase (iNOS) and interleukin 8 (IL8) – was assessed by quantitative PCR. The working concentrations of the extracts under study for HCT-116 cells were determined. It is demonstrated that all investigated extracts are capable of suppressing the expression of COX-2, iNOS and IL-8. Black chokeberry and fireweed extracts exhibit the most pronounced total inhibitory effect on the expression of these inflammatory genes. Future research should investigate effects of black chokeberry and fireweed extracts on the induced expression of COX-2, iNOS and IL-8 and their anti-carcinogenic activity *in vivo*. The antioxidant activity determined using DPPH and FRAP was the highest for black chokeberry, raspberry and fireweed. A relationship between the anticarcinogenic and antioxidant effects of the extracts under study was revealed.

**Keywords:** inflammation, antioxidant activity, plant extracts, COX2, iNOS, IL-8, MTT assay, qPCR

**Acknowledgments:** The research was carried out within the framework of the state assignment for fundamental research No. 0778-2020-0005.

**For citation:** Eremeeva NB, Makarova NV, Ignatov DF, Bakharev VV. Study of potential anti-carcinogenic and antioxidant effects of plant extracts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(4):613–626. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-613-626>

## ВВЕДЕНИЕ

Профилактика раковых заболеваний является наиболее рентабельной и долгосрочной стратегией борьбы с данным заболеванием. В настоящее время хорошо известно, что почти 50% всех случаев возникновения злокачественных опухолей у взрослых можно предотвратить, ведя здоровый образ жизни, предусматривающий употребление натуральных продуктов с профилактическим действием против рака [1]. В качестве химиопрофилактиков эти продукты представляют особый интерес ввиду их потенциально высокой эффективности [2, 3]. Так, например, описаны случаи, когда употребление зеленого чая может снизить риск возникновения рака верхних отделов желудочно-кишечного тракта, рака легких, гепатоцеллюлярного рака и рака молочной железы у женщин в менопаузе [4].

Полифенолы представляют собой одну из самых больших разновидностей растительных компонентов с несколькими тысячами отдельных типов соединений. Типичными полифенолами являются фенолсодержащие соединения с остовами углеродного скелета в диапазоне от C1-C6 до C3-C6 и C6-C3-C6 [5]. Именно у класса полифенолов выявлено наличие антиканцерогенного эффекта.

При химиопрофилактике рака применяют четыре основных механизма: модулирование наследственных признаков или изменений в экспрессии генов, которые вызваны воздействием

канцерогенов и которые могут активировать процесс канцерогенеза; противодействие эффектам обостряющих факторов (таких, например, как стресс), которые способствуют развитию раковых клеток; противодействие выживанию раковых клеток посредством модуляции клеточных механизмов; ограничение способности раковых клеток к метастазированию. Эффекты, вызываемые полифенолами, довольно многогранны, причем наиболее освещены механизмы, связанные со стимуляцией апоптоза [6] и аутофагии [7], регуляцией клеточных сигнальных каскадов [8, 9], эпигенетической модуляцией (метилирование ДНК или посттрансляционные модификации гистонов) [10, 11], а также ингибированием пролиферации раковых клеток, их ангиогенеза и метастазирования [12, 13]. Полифенолы используют антиоксидантные и противовоспалительные свойства для ингибирования канцерогенеза [14, 15], тем самым предотвращая или задерживая прогрессирование и клиническое проявление рака.

Одним из основных этиологических факторов возникновения некоторых видов рака является хроническое воспаление. Таким образом, некоторые противовоспалительные лекарственные средства (например, нестероидный противовоспалительный препарат Ибупрофен) обладают антиканцерогенным эффектом относительно раковых клеток толстой кишки.

За последние годы значительно возрос интерес к поиску систем с антиканцерогенным, анти-

мутагенным, антипролиферативным действием среди пищевых продуктов, пищевого сырья и пищевых полуфабрикатов. Так, среди наиболее интересных объектов можно выделить: по пищевым продуктам – вино [16], красные томаты [17]; по пищевому сырью – бобы [18], растительное сырье [19]; по пищевым полуфабрикатам – антоциановый комплекс из темной кислой вишни [20].

При этом в ряде исследований используется контроль биологической активности исследуемых объектов. Так, например, это может быть доксорубин [16], эллиптицин [17]. В других экспериментах применяется негативный контроль, например, для семян вигны [21]. Но в ряде работ внимание сосредоточено на сравнении нескольких пищевых объектов между собой, другие объекты не включаются, например, при исследовании фруктов и вина из черной смородины [22], растительного сырья (орегано, шиповник, семена крушины) [19].

В частности, на клеточной линии рака толстого кишечника методом ОТ-ПЦР было исследовано влияние нетоксических доз экстрактов на экспрессию генов: (1) циклооксигеназы 2 (COX-2); (2) индуцируемой NO-синтазы (*iNOS*); (3) интерлейкина 8 (*IL-8*) [23].

Функциональная активность гена COX-2 напрямую связана с воспалением. Этот ген экспрессируется макрофагами, синовиоцитами, фибробластами, гладкой сосудистой мускулатурой, хондроцитами и эндотелиальными клетками после индуцирования их цитокинами или факторами роста. Простагландины, образующиеся под действием COX-2, напрямую или опосредованно усиливают продукцию самого фермента по механизму положительной обратной связи [24]. Ингибирование COX-2 рассматривается как один из основных механизмов противовоспалительной активности нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), так как при селективном ингибировании данной циклооксигеназы можно минимизировать многие побочные симптомы, наблюдаемые при ингибировании циклооксигеназы 1. COX-2 играет важную роль в развитии воспалительных процессов и канцерогенеза в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Повышенную экспрессию COX-2 наблюдали в 85% злокачественных опухолей ЖКТ, что также коррелировало с низкой выживаемостью. На моделях у животных было показано, что делеция COX-2 или обработка животных селективными ингибиторами COX-2 уменьшает число опухолей, их размер и множественность. COX-2 способствует прогрессии опухоли за счет индукции экспрессии антиапоптотических белков семейства *Bcl-2*, что в дальнейшем приводит к резистентности к апоптозу [23].

*IL-8* известен как хемотаксический фактор Т-клеток и фактор, активирующий нейтрофилы (NAF) [25, 26]. Он относится к группе хемокинов,

основное свойство которых заключается в опосредовании хемотаксиса в зону воспаления различных типов клеток: нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, Т-клеток. *IL-8* обладает выраженной провоспалительными свойствами, вызывая экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливая прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам, что свидетельствует о его основной роли в опосредовании воспалительного ответа [27]. Клетками-продуцентами *IL-8* являются макрофаги, лимфоциты, эпителиальные клетки, фибробласты, клетки эпидермиса. Была также продемонстрирована роль *IL-8* в регуляции провоспалительного ангиогенеза: данный цитокин усиливает экспрессию фактора роста сосудов А (VEGF-A) эндотелиальными клетками и повышает экспрессию рецептора 2 фактора роста сосудов (VEGFR2) [28].

*iNOS* регулируется на уровне экспрессии провоспалительными цитокинами (фактор роста опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), интерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), гипоксией, окислительным стрессом и, как было недавно показано, белком теплового шока Hsp70 [29]. Ингибирование *iNOS* является результатом подавления активности провоспалительных и про-пролиферативных сигнальных путей NF- $\kappa$ B и JAK-STAT [30].

По результатам оценки экспрессии данных генов можно сделать вывод о наличии/отсутствии противовоспалительной активности экстрактов для клеток толстой кишки. Предлагаемое исследование не является изучением антиканцерогенных свойств молекул, но может служить основанием для проведения экспериментов *in vivo* по определению антиканцерогенной активности.

В последнее время увеличилось количество работ, где описана связь между антиканцерогенной и антиоксидантной активностями. Так, в работе [31] показано, что в листьях и стеблях *Gastrocotyle hispida* (растукотиле шершавый) имеется высокое содержание  $\beta$ -ситостерина и его производных, которые проявляют антиоксидантное действие по методам DPPH и ABTS, а также показали значительную активность против клеток рака печени, почек и молочной железы. Ученым канадского университета удалось выделить и очистить фукоидан из морских бурых водорослей *Sargassum polycystum*, а затем проанализировать его на антиоксидантную и антиканцерогенную активности [32]. Была выявлена прямая зависимость антиоксидантной активности по методу DPPH и жизнеспособности раковых клеток MCF-7 и HCT-15 от концентрации фукоидана. Установлено антиоксидантное и противомутагенное действие метанольных экстрактов, выделенных из листьев *Annona muricata* (анноны колючей – «сметанное яблоко») [33].

Целью представленной работы было исследовать

дование потенциальных антиканцерогенных эффектов экстрактов, полученных из растительного сырья. Были оценены: 1) влияние данных экстрактов на рост и жизнеспособность клеток рака толстого кишечника линии НСТ-116 *in vitro* с помощью МТТ-теста (3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтеразол); 2) влияние нетоксических доз экстрактов на базальный уровень экспрессии провоспалительных генов: (1) циклооксигеназы (COX-2); (2) индуцируемой NO-синтазы (iNOS); (3) интерлейкина 8 (IL8), методом количественного ПЦР-анализа (полимеразной цепной реакции); 3) антирадикальная активность по методу DPPH и восстанавливающая сила по методу FRAP; 4) зависимость антиканцерогенной и антиоксидантной активности.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Объекты исследования.** В качестве объектов исследования выбраны растительные экстракты, полученные из сырья: **1** – брусника (*Vaccinium vitis-idaea*); **2** – малина (*Rubus idaeus*); **3** – черноплодная рябина (*Aronia melanocarpa*); **4** – семена винограда (*Vitis L.*); **5** – выжимки винограда (*Vitis L.*); **6** – зеленый Краснодарский чай (*Camellia sinensis*); **7** – женьшень (*Panax L.*); **8** – иван-чай (*Chamaenerion angustifolium*); **9** – кофе (*Coffea arabica*).

**Технология получения экстрактов.** Все экстракты были получены экстрагированием 70%-м этиловым спиртом при ультразвуковом излучении в течение 90 мин с частотой 35 кГц и температуре 40±5 °С. Соотношение сырья и растворителя 1:10. Концентрирование происходило на циркуляционном вакуум-выпарном аппарате до содержания растворимых сухих веществ 65%.

**Клеточная линия.** В работе использовали линию клеток рака толстого кишечника НСТ-116 [34]. Клетки культивировали в стандартной среде DMEM, содержащей 5%-ную эмбриональную сыворотку телят («РАА», Австрия) и гентамицин (50 ед./мл) («Ранесо», Россия) при 37 °С и в 5%-м растворе CO<sub>2</sub>.

**Исследование жизнеспособности клеток (МТТ-тест).** Клетки рассеивали в 96-луночные планшеты («BDMicro-FinePlus», США) (3·10<sup>3</sup> клеток в 190 мкл культуральной среды) и инкубировали 24 ч. В день экспериментов приготавливали серийные разведения исследуемых растительных экстрактов. Клетки инкубировали с экстрактами в течение 72 ч в концентрациях от 0,03125 до 2% об., затем вносили 20 мкл раствора реагента МТТ (5 мг/мл, ПанЭко, Россия) в солевом растворе Хэнкса (ПанЭко, Россия) и инкубировали 2 ч при 37 °С до развития фиолетовой окраски.

ки. Образовавшийся формазан растворяли в 200 мкл диметилсульфоксида (ДМСО, ПанЭко, Россия), инкубировали при 37 °С. После полного растворения кристаллов формазана измеряли оптическую плотность содержимого лунок на мультилуночном спектрофотометре MultiScan MCC 340 (Labsystems, США) при длине волны 570 нм. Данные представляли в виде оптической плотности экспериментальных образцов относительно контроля. За 100% принимали оптическую плотность в контроле, где клетки инкубировали в присутствии 1%-го раствора этанола.

Клетки инкубировали с экстрактами в течение 72 ч в концентрациях от 0,03125 до 2% об. Затем вносили 20 мкл раствора реагента МТТ (5 мг/мл, ПанЭко, Россия) в солевом растворе Хэнкса (ПанЭко, Россия) и инкубировали 2 ч при 37 °С до развития фиолетовой окраски. Образовавшийся формазан растворяли в 200 мкл диметилсульфоксида (ДМСО, ПанЭко, Россия), инкубировали при 37 °С. После полного растворения кристаллов формазана измеряли оптическую плотность содержимого лунок на мультилуночном спектрофотометре MultiScan MCC 340 (Labsystems, США) при длине волны 570 нм. Данные представляли в виде оптической плотности экспериментальных образцов относительно контроля. За 100% принимали оптическую плотность в контроле, где клетки инкубировали в присутствии 1%-го раствора этанола.

По результатам МТТ-теста исследуемых экстрактов на цитотоксичность в широком диапазоне концентраций (0,031–2% об.) показано, что они обладают цитотоксическим эффектом на клетки рака толстого кишечника НСТ-116 (табл. 1).

Клетки инкубировали с полуфабрикатом в течение 72 ч в концентрациях 0,03125–2% об., затем вносили 20 мкл раствора реагента МТТ (5 мг/мл) в солевом растворе Хэнкса (ПанЭко) и инкубировали 2 ч при 37 °С до развития фиолетовой окраски. Образовавшийся формазан растворяли в 200 мкл диметилсульфоксида (ДМСО), инкубировали при 37 °С. После полного растворения кристаллов формазана измеряли оптическую плотность содержимого лунок на мультилуночном спектрофотометре при длине волны 570 нм. Данные представлены в виде оптической плотности экспериментальных образцов относительно контроля. За 100% принимали оптическую плотность в контроле, где клетки инкубировали в отсутствие соединения, но в присутствии растворителя (1% этанола).

Далее были использованы нетоксичные концентрации экстрактов и выбраны рабочие концентрации для исследования влияния экстрактов на уровень экспрессии генов COX-2, iNOS и IL-8.

**Таблица 1.** Влияние экстрактов на жизнеспособность клеток НСТ-116  
**Table 1.** Effect of extracts on the viability of НСТ-116 cells

Объемная концентрация, %	0,25±0,05	0,165±0,01	0,09±0,03
Жизнеспособность клеток	IC50	IC30	IC10

Количественный ПЦР-анализ экспрессии генов *COX-2*, *iNOS* и *IL-8* проводили после предварительного культивирования клеток НСТ-116 в течение 24 ч с исследуемыми экстрактами в указанных в табл. 2 рабочих концентрациях. Количество ПЦР-продуктов оценивали и нормализовали по количеству ПЦР-продукта гена *Rpl27*.

**Выделение РНК.** Выделение тотальной клеточной РНК проводили с помощью набора для выделения РНК RNeasy kit. Концентрацию РНК определяли по оптической плотности раствора, измеренной на спектрофотометре при длине волны 260 нм. Об отсутствии примесей в образце судили по соотношению значений оптической плотности раствора при длине волны 260 и 280 нм.

**Реакция обратной транскрипции.** После выделения РНК для получения кДНК проводили реакцию обратной транскрипции. Для этого 1 мкг РНК смешивали с 0,4 мкг случайных гексамерных олигонуклеотидов, денатурировали при 25 °С и охлаждали на льду. В смесь для обратной транскрипции входили: 2 ед. обратной транскриптазы MMLV, соответствующий буфер, 2 мМ дитиотрейтола, 0,5 ед. ингибитора рибонуклеаз, 0,5 мМ дНТФ, и дистиллированная вода до 20 мкл. Реакцию проводили при 37 °С в течение 1 ч, затем останавливали реакцию инаktivацией обратной транскриптазы при 95 °С в течение 5 мин, добавляли 80 мкл дистиллированной воды и использовали аликвоты для проведения ПЦР-амплификации в реальном времени со специфическими праймерами.

**Количественный ПЦР-анализ в реальном времени.** Рабочие разведения кДНК после реакции обратной транскрипции были получены путем разведения образцов 1:10 стерильной деионизированной водой. 5 мкл рабочего раствора кДНК добавляли к 20 мкл реакционной смеси, содержащей SYBR Green Master Mix, по 500 нМ прямого и обратного праймеров. Количественный ПЦР-анализ в режиме реального времени проводили с использованием ПЦР-анализатора Bio-Rad iQ5. Программа амплификации была следующей: 95 °С – 10 мин, 40 циклов (95 °С – 15 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 30 с). Относительное изменение экспрессии исследуемой мРНК вычисляли методом  $\Delta\Delta Ct$ , где  $\Delta\Delta Ct$  определяли путем вычитания среднего  $\Delta Ct$  контроля из  $\Delta Ct$  экспериментальных образцов [35]. Для каждого гена интереса ПЦР-анализ был проведен в трех повторах, а также были получены кривые плавления для каждой пары праймеров для подтверждения специфичности. Анализ кривых плавления проводили при увеличении температуры с 55 до 95 °С с шагом 0,5 °С. В качестве контроля использовали ген рибосомального белка *L27* (*Rpl27*).

Праймеры для амплификации кДНК были сконструированы с помощью базы данных Primer-

Bank (<http://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/>) и пакета программ Oligo 6. Последовательности праймеров указаны в табл. 1.

**DPPH-метод.** Метод определения радикалу-держивающей способности с использованием реактива 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила проводили следующим образом. В пробирки помещали 0,20 см<sup>3</sup> экстракта концентрацией 0,1 мг/см<sup>3</sup>, 2,00 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, 2,00 см<sup>3</sup> спиртового раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. В контрольную пробу по экстракту помещали вместо раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила дистиллированную воду. В контрольную пробу по раствору 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила приливали вместо экстракта дистиллированную воду. Смесь выдерживали в течение 30 мин в недоступном для света месте. Колориметрию свободных радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила проводили спектрофотометрическим методом на приборе КФК-2-01-3ОМЗ при длине волны 517 нм в кювете толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения помещали этиловый спирт. Для данного исследования использовали экстракты 1–9 концентрацией 0,005; 0,05; 0,10; 0,25 и 0,50 г/см<sup>3</sup>.

**Таблица 2.** Последовательность используемых праймеров

**Table 2.** Sequence of primers used

Ген	Последовательность (прямая/обратная), 5'-3'
<i>RPL27</i>	ACC GCT ACC CCC GCA AAG TG CCC GTC GGG CCT TGC GTT TA
<i>COX2</i>	CCGGGTACAATCGCACTTAT GGCGCTCAGCCATACAG
<i>iNOS</i>	CGGCCATCACCGTGTTC CCC TGCAGTCGAGTGGTGGTCCA
<i>IL-8</i>	TCCTGATTTCTGCAGCTCTGTG TCCAGACAGAGCTCTCTCCAT

**FRAP-метод (метод определения железосвязывающей активности экстрактов).** Подготавливали реактив FRAP: в колбу помещали 10,00 см<sup>3</sup> ацетатного буфера, pH= 3,6, 1,00 см<sup>3</sup> 20 мМ раствора хлорида железа (III), 1,00 см<sup>3</sup> реагента 2,4,6-три-(2-пиридил)-1,3,5-триазина (TPTZ). Смесь выдерживали в термостате в течение 10 мин при температуре 37 °С при периодическом перемешивании. В пробирки прибавляли 1,00 см<sup>3</sup> реактива FRAP, 3,00 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, 0,10 готовых экстрактов 1–9 концентрацией 0,1 мг/см<sup>3</sup>. В контрольную пробу приливали вместо экстракта 0,10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Смесь выдерживают 4 мин при температуре 37 °С при периодическом перемешивании. Определение железосвязывающей активности проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 593 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения приливали дистиллированную воду. Определение железосвязывающей активности прово-

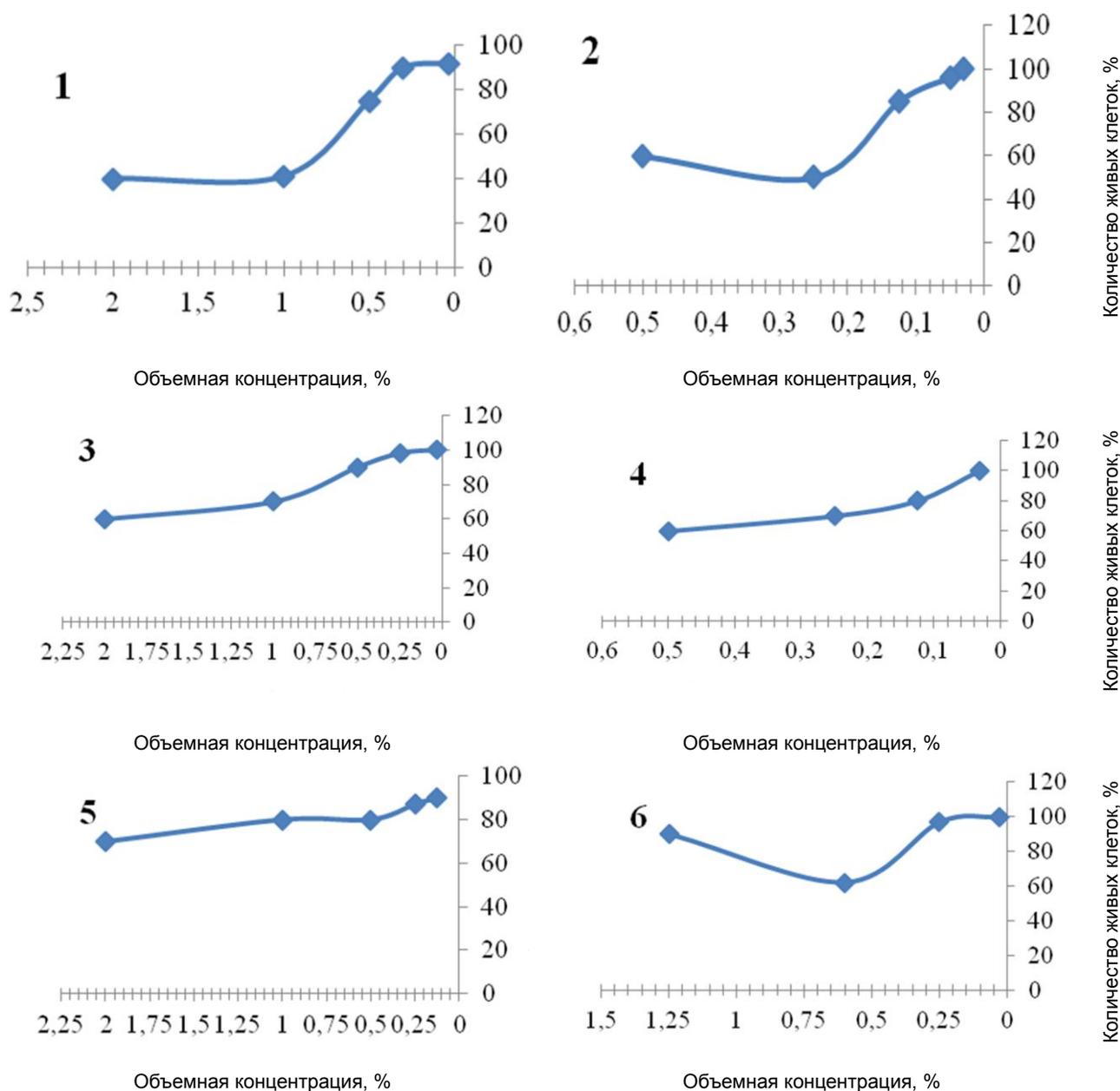
дили по калибровочной кривой и выражали в ммоль Fe<sup>2+</sup>/1 кг исходного сырья.

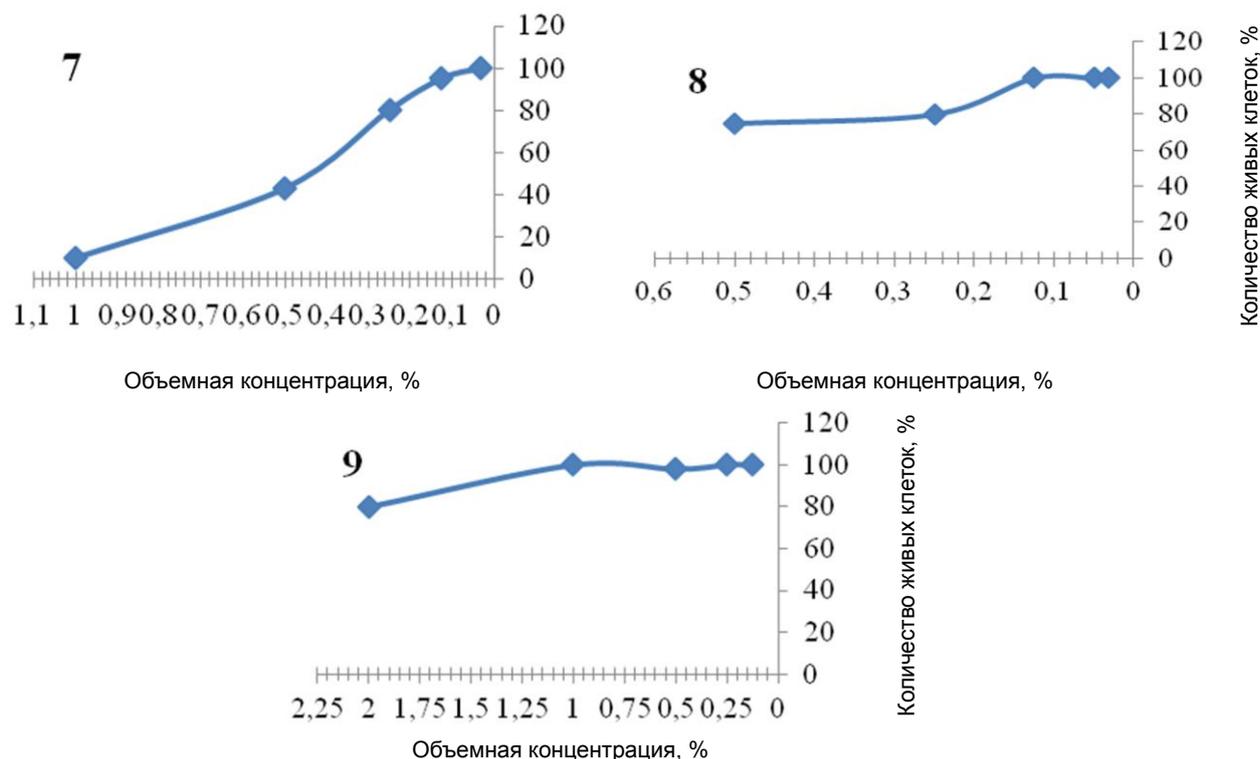
**Статистическая обработка данных.** Все эксперименты выполнены в трех повторах. Средние значения и среднеквадратичные отклонения рассчитывали с помощью пакета программ Microsoft Excel. Для определения статистической значимости выявленных различий использовали парный двухвыборочный *t*-тест Стьюдента для средних. Во всех случаях статистические критерии считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Результаты МТТ-теста на цитотоксичность.** При проведении МТТ-теста на цитотоксичность исследуемых экстрактов в широком диапазоне концентраций (0,031–2% об.) было

показано, что все экстракты обладают цитотоксическим эффектом на раковые клетки толстого кишечника НСТ-116, причем этот эффект различается в зависимости от исследуемого экстракта и является дозозависимым (рис. 1). Так, наиболее цитотоксичным оказался экстракт женьшеня (7): при концентрации 1% об. количество жизнеспособных клеток составило 11% от контроля. Наименее цитотоксичным оказался экстракт кофе (9): при его концентрации в среде 2% об. количество жизнеспособных клеток составило 77% относительно контроля. Также были достигнуты нетоксичные концентрации экстрактов 1–9 и выбраны рабочие концентрации для исследования влияния экстрактов на уровень экспрессии генов COX-2, *i*NOS и IL-8 (см. табл. 2).





**Рис. 1.** Влияние экстрактов на жизнеспособность клеток HCT-116:  
 1 – брусника; 2 – малина; 3 – черноплодная рябина; 4 – семена винограда; 5 – выжимки винограда;  
 6 – зеленый Краснодарский чай; 7 – женьшень; 8 – иван-чай; 9 – кофе;  
 стоковые водные растворы с объемным содержанием этанола 8,5 %

**Fig. 1.** Effect of extracts on the viability of HCT-116 cells:  
 1 – lingonberry; 2 – raspberries; 3 – chokeberry; 4 – grape seeds; 5 – pomace of grapes;  
 6 – green Krasnodar tea; 7 – ginseng; 8 – fireweed; 9 – coffee;  
 stock aqueous solutions with a volumetric ethanol content of 8.5%

**Таблица 3.** Рабочие концентрации экстрактов при проведении количественного ПЦР-анализа  
**Table 3.** Working concentrations of extracts during quantitative PCR analysis

Экстракт	Рабочая концентрация, % об.	
	1	2
1 – брусника ( <i>Vaccinium vitis-idaea</i> )	0,35	0,175
2 – малина ( <i>Rubus idaeus</i> )	0,0625	0,03125
3 – черноплодная рябина ( <i>Aronia melanocarpa</i> )	0,5	0,25
4 – семена винограда ( <i>Vitis L.</i> )	0,0625	0,03125
5 – выжимки винограда ( <i>Vitis L.</i> )	0,5	0,25
6 – зеленый Краснодарский чай ( <i>Camellia sinensis</i> )	0,3125	0,15625
7 – женьшень ( <i>Panax L.</i> )	0,2	0,1
8 – иван-чай ( <i>Chamaenerion angustifolium</i> )	0,25	0,125
9 – кофе ( <i>Coffea arabica</i> )	1,5	0,75

**Результаты количественного ПЦР-анализа.**  
 ПЦР-анализ экспрессии гена *COX-2* после обработки раковых клеток толстого кишечника линии HCT-116 показал, что в целом все экстракты оказывают ингибирующее действие на экспрессию данного гена. Влияние ряда экстрактов на экспрессию гена *COX-2* носило дозозависимый характер. Так, из диаграмм, представленных на рис. 2, видно, что экстракт брусники (1) в концентрации 0,35% об. вызывает снижение экспрессии *COX-2* на 56%, а в концентрации 0,18% об. – на 22%. Экстракт черноплодной рябины (3) в концентрации 0,5% об. подавляет транскрипцию гена *COX-2* на 47%, в концентрации 0,25% об. – на

16%. Наиболее ярко подобный эффект был выражен после обработки клеток экстрактом женьшеня (7): экспрессия *COX-2* снизилась более чем в 10 раз после инкубации клеток с данным экстрактом в максимальной концентрации. Аналогичные дозовые зависимости, но в меньшей степени, наблюдались для экстрактов малины (2), семян винограда (4). Обратная дозозависимость (максимальное подавление экспрессии *COX-2* при минимальной концентрации) была продемонстрирована для экстрактов зеленого чая (6) и иван-чая (8). Для экстрактов из выжимок винограда (5) и кофе (9) ни прямой, ни обратной зависимости не наблюдалось. Данные эффекты

могут быть связаны как с множественностью эффектов химических соединений, содержащихся в исследуемых экстрактах, на противовоспалительные сигнальные пути, так и с авторегуляцией экспрессии исследуемых генов по механизму отрицательной обратной связи.

При анализе экспрессии гена *iNOS* были продемонстрированы зависимости, представленные на рис. 3. Так, наиболее выраженное дозозависимое ингибирующее действие на экспрессию *iNOS* оказывали экстракт черноплодной рябины (3), экстракт зеленого чая (6) и экстракт иван-чая (8). В случае обработки клеток экстрактом черноплодной рябины в концентрации 0,5% об. было продемонстрировано снижение экспрессии *iNOS* на 83%, в то время как в концентрации 0,25% об. экспрессия исследуемого гена была подавлена только на 41%. Для зеленого чая эти показатели составили 85 и 52% соответственно. Иван-чай в максимальной концентрации также снижал экспрессию *iNOS* более чем в 10 раз, и на 33% – при использовании 2х-кратного разведения максимальной концентрации. Аналогичную дозозависимую зависимость в менее выраженной степени продемонстрировали экстракты брусники (1), малины (2), семян винограда (4), женьшеня (7). Обратную дозозависимость

наблюдали в случае выжимок винограда (5). Отсутствие дозовой зависимости было показано для экстракта кофе (9).

В ходе ПЦР-анализа влияния экстрактов 1–9 на экспрессию гена *IL-8* было показано, что все экстракты в той или иной степени ингибируют экспрессию данного гена. Наиболее выраженно этот эффект наблюдали в случае экстрактов черноплодной рябины (3), выжимок винограда (5) и иван-чая (8). Так, при обработке клеток НСТ-116 экстрактом черноплодной рябины в концентрации 0,5% об. подавляет экспрессию *IL-8* на 75%, в концентрации 0,25% об. – на 51%. Для экстрактов выжимок винограда и зеленого чая эти показатели составили 60 и 46%, 81 и 91%, соответственно. Можно увидеть, что в случае иван-чая имеет место обратная дозовая зависимость. Менее выраженная дозовая зависимость была продемонстрирована для экстрактов малины (2), семян винограда (4), зеленого чая (6). Обратную дозозависимость наблюдали в случае экстрактов брусники (1), кофе (9). Эффект экстракта женьшеня (7) на экспрессию *IL-8* не зависел от дозы исследуемого экстракта. Данные по влиянию исследуемых экстрактов на экспрессию гена *IL-8* представлены на рис. 4.

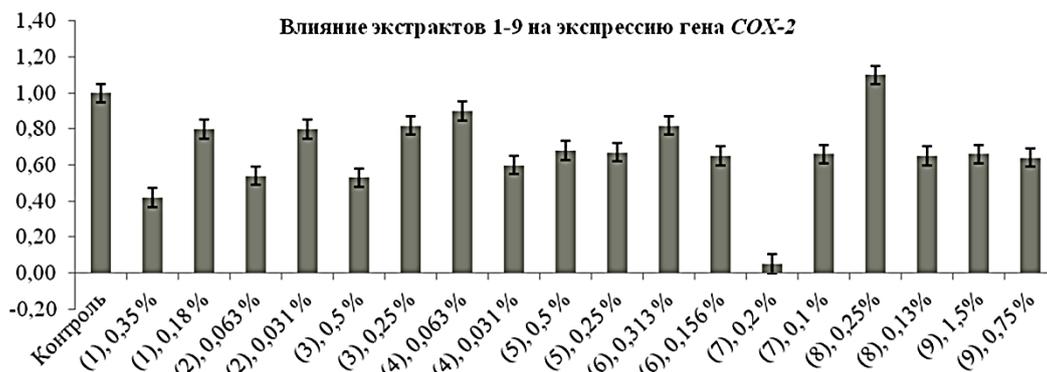


Рис. 2. Влияние экстрактов на экспрессию гена COX-2. Экстракты: 1 – брусника; 2 – малина; 3 – черноплодная рябина; 4 – семена винограда; 5 – выжимки винограда; 6 – зеленый Краснодарский чай; 7 – женьшень; 8 – иван-чай; 9 – кофе

Fig. 2. Effect of extracts on COX-2 gene expression. Extracts: 1 – lingonberry; 2 – raspberries; 3 – chokeberry; 4 – grape seeds; 5 – pomace of grapes; 6 – green Krasnodar tea; 7 – ginseng; 8 – fireweed; 9 – coffee

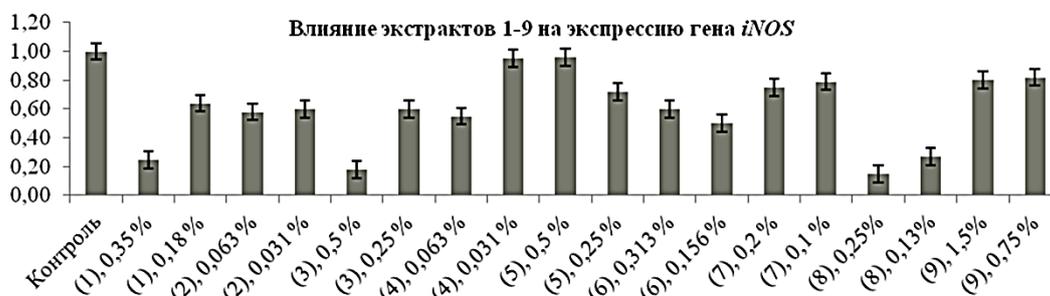


Рис. 3. Влияние экстрактов на экспрессию гена iNOS. Экстракты: 1 – брусника; 2 – малина; 3 – черноплодная рябина; 4 – семена винограда; 5 – выжимки винограда; 6 – зеленый Краснодарский чай; 7 – женьшень; 8 – иван-чай; 9 – кофе

Fig. 3. Effect of extracts on iNOS gene expression. Extracts: 1 – lingonberry; 2 – raspberries; 3 – chokeberry; 4 – grape seeds; 5 – pomace of grapes; 6 – green Krasnodar tea; 7 – ginseng; 8 – fireweed; 9 – coffee

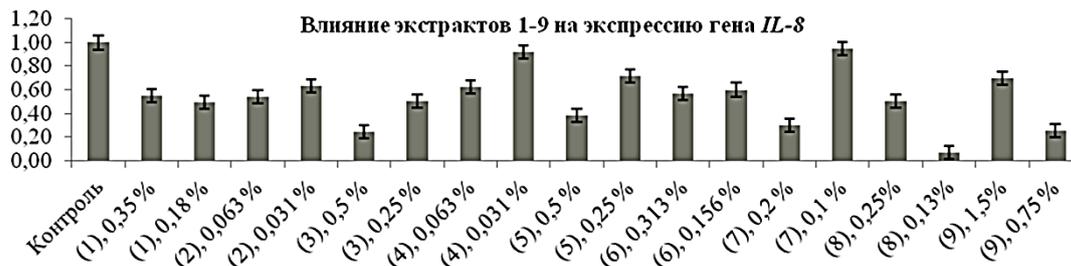


Рис. 4. Влияние экстрактов на экспрессию гена *IL-8*.

Экстракты: 1 – брусника; 2 – малина; 3 – черноплодная рябина; 4 – семена винограда; 5 – выжимки винограда; 6 – зеленый Краснодарский чай; 7 – женьшень; 8 – иван-чай; 9 – кофе

Fig. 4. Effect of extracts on *IL-8* gene expression.

Extracts: 1 – lingonberry; 2 – raspberries; 3 – chokeberry; 4 – grape seeds; 5 – pomace of grapes; 6 – green Krasnodar tea; 7 – ginseng; 8 – fireweed; 9 – coffee

Таким образом, в ходе работы было продемонстрировано, что все исследуемые экстракты способны снижать экспрессию провоспалительных генов *COX-2*, *iNOS* и *IL-8*, что подтверждают многочисленные исследования [7–9]. Наиболее выраженным суммарным ингибирующим действием на экспрессию данных генов обладали экстракты черноплодной рябины (3) и иван-чая (8). Данные экстракты рекомендуется использовать в дальнейших исследованиях влияния на индуцированную экспрессию генов *COX-2*, *iNOS* и *IL-8*, а также в исследованиях антиканцерогенной активности *in vivo*.

Улавливание свободных радикалов играет важную роль в формировании общей системы антиоксидантной активности, в том числе и для живых клеток. Именно 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH) является одним из широко используемых реактивов для определения антирадикальной активности благодаря его простоте, широкой апробированности, наглядности и точности измерений. Проведенные анализы по радикалу-держивающей способности методом DPPH выявили, что лидером являются экстракты черно-

плодной рябины (1,0 мг/см<sup>3</sup>), малины (2,0 мг/см<sup>3</sup>), семян винограда (3,1 мг/см<sup>3</sup>) и иван-чая (4,0 мг/см<sup>3</sup>). FRAP-метод является одним из самых надежных и востребованных методов для оценки способности антиоксиданта тормозить катализирующее действие ионов металлов на окислительные процессы. В случае определения железосвязывающей способности по методу FRAP определено, что наибольшей силой обладают также экстракты женьшеня (10,19 ммоль Fe<sup>2+</sup>/кг), черноплодной рябины (18,2 ммоль Fe<sup>2+</sup>/кг), иван-чая (22,14 ммоль Fe<sup>2+</sup>/кг) и малины (22,3 ммоль Fe<sup>2+</sup>/кг). На рис. 5 приведены показатели антирадикальной активности по методу DPPH и восстанавливающей силы по методу FRAP. Во всех показателях наибольшую активность проявляют одни и те же экстракты, а именно, экстракты черноплодной рябины, малины и иван-чая. Сравнительный анализ данных, представленных на рис. 2–4, и данных рис. 5 позволяет предположить, что в проявлении антиоксидантной и антиканцерогенной активностей задействованы одни и те же группы химических соединений.

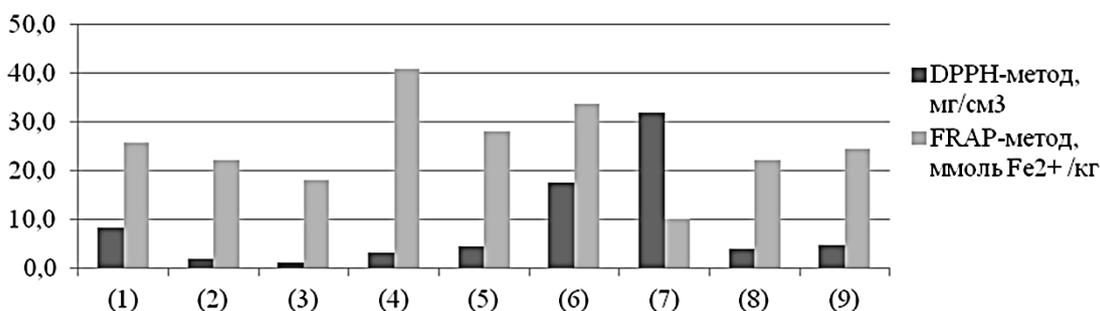


Рис. 5. Антирадикальная активность по методу DPPH и восстанавливающая сила по методу FRAP

Экстракты: 1 – брусника; 2 – малина; 3 – черноплодная рябина; 4 – семена винограда; 5 – выжимки винограда; 6 – зеленый Краснодарский чай; 7 – женьшень; 8 – иван-чай; 9 – кофе

Fig. 5. Antiradical activity according to DPPH method and restoring force according to FRAP method

Extracts: 1 – lingonberry; 2 – raspberries; 3 – chokeberry; 4 – grape seeds; 5 – pomace of grapes; 6 – green Krasnodar tea; 7 – ginseng; 8 – ivan tea; 9 – coffee

## ВЫВОДЫ

При проведении МТТ-теста на цитотоксичность установлено, что наиболее цитотоксичным оказался экстракт женьшеня (7), а наименее – экстракт кофе (9). Также были достигнуты нетоксичные концентрации анализируемых экстрактов.

В ходе работы было продемонстрировано, что все исследуемые экстракты способны снижать экспрессию провоспалительных генов COX-2, iNOS и IL-8. Наиболее выраженное суммарное ингибирующее действие на экспрессию данных генов

имели экстракты черноплодной рябины (3) и иванчая (8). Данные экстракты рекомендуется использовать в дальнейших исследованиях влияния на индуцированную экспрессию генов COX-2, iNOS и IL-8, а также в исследованиях антиканцерогенной активности *in vivo*.

Во всех показателях наибольшую антиоксидантную активность проявляют одни и те же экстракты, а именно, экстракты черноплодной рябины, малины и иванчая, что коррелируются с данными по антиканцерогенной активности.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Jupp P.W. A complex systems approach to cancer prevention // *Medical Hypotheses*. 2018. Vol. 112. P. 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2018.01.006>
2. Bail J., Meneses K., Demark-Wahnefried W. Nutritional status and diet in cancer prevention // *Seminars in Oncology Nursing*. 2016. Vol. 32. Issue 3. P. 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2016.05.004>
3. Жестовская Е.С., Антохин А.М., Таранченко В.Ф., Василевский С.В., Аксенов А.В., Аксенова Ю.Б., [и др.]. Исследование компонентного состава лекарственного растительного сырья методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // *Химия растительного сырья*. 2018. N 3. С. 149–157 <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033433>
4. Greenlee H. Natural products for cancer prevention // *Seminars in Oncology Nursing*. 2012. Vol. 28. Issue 1. P. 29–44. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2011.11.004>
5. Sae-leaw T., Benjakul S. Prevention of melanosis in crustaceans by plant polyphenols: A review // *Trends in Food Science & Technology*. 2019. Vol. 85. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.12.003>
6. Curti V., di Lorenzo A., Dacrema M., Xiao J., Nabavi S.M., Daglia M. *In vitro* polyphenol effects on apoptosis: an update of literature data // *Seminars in Cancer Biology*. 2017. Vol. 46. P. 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.08.005>
7. Gali-Muhtasib H., Hmadi R., Kareh M., Tohme R., Darwiche N. Cell death mechanisms of plant-derived anticancer drugs: beyond apoptosis // *Apoptosis*. 2015. Vol. 20. Issue 12. P. 1531–1562. <https://doi.org/10.1007/s10495-015-1169-2>
8. Dayem A.A., Choi H.Y., Yang G.-M., Kim K., Saha S.K., Cho S.-G. The anticancer effect of polyphenols against breast cancer and cancer stem cells: molecular mechanisms // *Nutrients*. 2016. Vol. 8. Issue 9. P. 581. <https://doi.org/10.3390/nu8090581>
9. Lewandowska H., Kalinowska M., Lewandowski W., Stepkowski T.M., Brzoska K. The role of natural polyphenols in cell signaling and cytoprotection against cancer development // *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2016. Vol. 32. P. 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.11.006>
10. Li W., Guo Y., Zhang C., Wu R., Yang A.Y., Gaspar J., et al. Dietary phytochemicals and cancer chemoprevention: a perspective on oxidative stress, inflammation, and epigenetics // *Chemical Research in Toxicology*. 2016. Vol. 29. Issue 12. P. 2071–2095. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00413>
11. Wu J.C., Lai C.S., Lee P.S., Ho C.T., Liou W.S., Wang Y.J., et al. Anti-cancer efficacy of dietary polyphenols is mediated through epigenetic modifications // *Current Opinion in Food Science*. 2016. Vol. 8. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.01.009>
12. Di Leo N., Battaglini M., Berger L., Giannaccini M., Dente L., Hampel S., et al. A catechin nanoformulation inhibits WM266 melanoma cell proliferation, migration and associated neo-angiogenesis // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017. Vol. 114. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.12.024>
13. Morbidelli L. Polyphenol-based nutraceuticals for the control of angiogenesis: analysis of the critical issues for human use // *Pharmacological Research*. 2016. Vol. 111. P. 384–393. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.07.011>
14. Amani H., Ajami M., Nasser Maleki S., Pazoki-Toroudi H., Daglia M., Tsetegho Sokeng A.J., et al. Targeting signal transducers and activators of transcription (STAT) in human cancer by dietary polyphenolic antioxidants // *Biochimie*. 2017. Vol. 142. P. 63–79. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.08.007>
15. Omidian K., Rafiei H., Bandy B. Polyphenol inhibition of benzo[a]pyrene-induced oxidative stress and neoplastic transformation in an *in vitro* model of carcinogenesis // *Food and Chemical Toxicology*. 2017. Vol. 106 (Pt. A). P. 165–174. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.05.037>
16. Mahendran G., Ponnuchamy K. Coumarin-gold nanoparticle Coumarin-gold nanoparticle bioconjugates: preparation, antioxidant, and cytotoxic effects against MCF-7 breast cancer cells // *Applied Nanoscience*. 2018. Vol. 8. P. 447–453. <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0816-7>
17. Campestrini L.H., Melo P.S., Peres L.E.P., Calhelha R.C., Ferreira I.C.F.R., Alencar S.M. A new variety of purple tomato as a rich source of bioactive carotenoids and its potential health benefits // *Heliyon*. 2019. Vol. 5. Issue 11. P. e02831. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02831>
18. Oliveira-Alves Sh.C., Pereira R.S., Pereira

A.B., Ferreira A., Mecha E., Bento da Silva A., et al. Identification of functional compounds in baru (*Dip-teryx alata* Vog.) nuts: Nutritional value, volatile and phenolic composition, antioxidant activity and anti-proliferative effect // Food Research International. 2020. Vol. 131. P. 109026. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109026>

19. Zhamanbayeva G.T., Aralbayeva A.N., Mur-zakhmetova M.K., Tuleukhanov S.T., Danilenko M. Cooperative antiproliferative and differentiation-enhancing activity of medicinal plant extracts in acute myeloid leukemia cells // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016. Vol. 82. P. 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.04.062>

20. Lage N.N., Layosa M.A.A., Arbizu S., Chew B.P., Pedrosa M.L., Mertens-Talcott S., et al. Dark sweet cherry (*Prunus avium*) phenolics enriched in anthocyanins exhibit enhanced activity against the most aggressive breast cancer subtypes without toxicity to normal breast cells // Journal of Functional Foods. 2020. Vol. 64. P. 103710. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103710>

21. Joanitti G.A., Azevedo R.B., Freitas S.M. Apoptosis and lysosome membrane permeabilization induction on breast cancer cells by an anticarcinogenic Bowman-Birk protease inhibitor from *Vigna unguiculata* seeds // Cancer Letters. 2010. Vol. 293. Issue 1. P. 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2009.12.017>

22. Jeong J.-H., Jung H., Lee S.-R., Lee H.-J., Hwang K.T., Kim T.-Y. Anti-oxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black raspberry fruits and wine // Food Chemistry. 2010. Vol. 123. Issue 2. P. 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.040>

23. Luo C., Zhang H. The role of proinflammatory pathways in the pathogenesis of colitis-associated colorectal cancer // Mediators of Inflammation. 2017. Vol. 2017. Article ID 5126048. <https://doi.org/10.1155/2017/5126048>

24. Agrawal U., Kumari N., Vasudeva P., Mohanty N.K., Saxena S. Overexpression of COX2 indicates poor survival in urothelial bladder cancer // Annals of Diagnostic Pathology. 2018. Vol 34. P. 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2018.01.008>

25. Li W., Lin S., Li W., Wang W., Li X., Xu D. IL-8 interacts with metadherin promoting proliferation and migration in gastric cancer // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2016. Vol. 478. Issue 3. P. 1330–1337. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.08.123>

26. Issy A.C., Nascimento G.C., Dias de Abreu G.H., Tristão F.S., Del-Bel E., Duarte T., et al. Differential behavioral and glial responses induced by

dopaminergic mechanisms in the iNOS knockout mice // Behavioural Brain Research. 2018. Vol. 350. P. 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.05.002>

27. Wu H.X., Cheng X., Jing X.-Q., Ji X.-P., Chen X.-Z., Zhang Y.-Q., et al. LIFR promotes tumor angiogenesis by up-regulating IL-8 levels in colorectal cancer // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease. 2018. Vol. 1864. Issue 9. Part B. P. 2769–2784. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.05.004>

28. Chang C.-Y., Chen J.-Y., Chen S.-H., Cheng T.-J., Lin M.-T., Hu M.-L. Therapeutic treatment with ascorbate rescues mice from heat stroke-induced death by attenuating systemic inflammatory response and hypothalamic neuronal damage // Free Radical Biology and Medicine. 2016. Vol. 93. P. 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.017>

29. Alfaro C., Sanmamed M.F., Rodríguez-Ruiz M.E., Teixeira Á., Onate C., González Á., et al. Interleukin-8 in cancer pathogenesis, treatment and follow-up // Cancer Treatment Reviews. 2017. Vol. 60. P. 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.08.004>

30. Shahat A.A., Hidayathulla S., Khan A.A., Alanazi A.M., Meanazel O.A., Alqahtani A.S., et al. Phytochemical profiling, antioxidant and anticancer activities of *Gastrocotyle hispida* growing in Saudi Arabia // Acta Tropica. 2019. Vol. 191. P. 243–247. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.01.013>

31. Omoni A.O., Aluko R.E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review // Trends in Food Science & Technology. 2005. Vol. 16. Issue 8. P. 344–350. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.02.002>

32. Md Roduan M.R., Hamid R.A., Cheah Y.K., Mohtarrudin N. Cytotoxicity, antitumor-promoting and antioxidant activities of *Annona muricata* *in vitro* // Journal of Herbal Medicine. 2019. Vol. 15. P. 100219. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.04.004>

33. Vannini F., Kashfi K., Nath N. The dual role of iNOS in cancer // Redox Biology. 2015. Vol. 6. P. 334–343. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.009>

34. Schroy P.C., Brown-Shimer S., Kim K., Johnson K.A., Murnane M.J., Yang S., et al. Detection of p21ras mutations in colorectal adenomas and carcinomas by enzyme-linked immunosorbent assay // Cancer. 1995. Vol. 76. Issue 2. P. 201–209. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19950715\)76:2<201::aid-cnrcr2820760207>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19950715)76:2<201::aid-cnrcr2820760207>3.0.co;2-t)

35. Kubista M., Andrade J.M., Bengtsson M., Forootan A., Jona'k J., Lind K., et al. The real-time polymerase chain reaction // Molecular Aspects of Medicine. 2006. Vol. 27. P. 95–125. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.12.007>

## REFERENCES

1. Jupp PW. A complex systems approach to cancer prevention. *Medical Hypotheses*. 2018;112:18–23. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2018.01.006>

2. Bail J, Meneses K, Demark-Wahnefried W.

Nutritional status and diet in cancer prevention. *Seminars in Oncology Nursing*. 2016;32(3):206–214. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2016.05.004>

3. Zhestovskaya YeS, Antokhin AM, Taranchen-

- ko VF, Vasilevskiy SV, Aksenov AV, Aksenova YuB, et al. Study of component composition of medicinal plant materials by gas chromatography with mass-spectrometric detection. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2018;3:149–157. (In Russian) <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033433>
4. Greenlee H. Natural products for cancer prevention. *Seminars in Oncology Nursing*. 2012;28(1):29–44. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2011.11.004>
5. Sae-leaw T, Benjakul S. Prevention of melanosis in crustaceans by plant polyphenols: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2019;85:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.12.003>
6. Curti V, di Lorenzo A, Dacrema M, Xiao J, Nabavi SM, Daglia M. *In vitro* polyphenol effects on apoptosis: an update of literature data. *Seminars in Cancer Biology*. 2017;46:119–131. <https://doi.org/10.1016/j.semcan.2017.08.005>
7. Gali-Muhtasib H, Hmadi R, Kareh M, Tohme R, Darwiche N. Cell death mechanisms of plant-derived anticancer drugs: beyond apoptosis. *Apoptosis*. 2015;20(12):1531–1562. <https://doi.org/10.1007/s10495-015-1169-2>
8. Dayem AA, Choi HY, Yang G-M, Kim K, Saha SK, Cho S-G. The anticancer effect of polyphenols against breast cancer and cancer stem cells: molecular mechanisms. *Nutrients*. 2016;8(9):581. <https://doi.org/10.3390/nu8090581>
9. Lewandowska H, Kalinowska M, Lewandowski W, Stepkowski TM, Brzoska K. The role of natural polyphenols in cell signaling and cytoprotection against cancer development. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2016;32:1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.11.006>
10. Li W, Guo Y, Zhang C, Wu R, Yang AY, Gaspar J, et al. Dietary phytochemicals and cancer chemoprevention: a perspective on oxidative stress, inflammation, and epigenetics. *Chemical Research in Toxicology*. 2016;29(12):2071–2095. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00413>
11. Wu JC, Lai CS, Lee PS, Ho CT, Liou WS, Wang YJ, et al. Anti-cancer efficacy of dietary polyphenols is mediated through epigenetic modifications. *Current Opinion in Food Science*. 2016;8:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.01.009>
12. Di Leo N, Battaglini M, Berger L, Giannaccini M, Dente L, Hampel S, et al. A catechin nanoformulation inhibits WM266 melanoma cell proliferation, migration and associated neo-angiogenesis. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;114:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.12.024>
13. Morbidelli L. Polyphenol-based nutraceuticals for the control of angiogenesis: analysis of the critical issues for human use. *Pharmacological Research*. 2016;111:384–393. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.07.011>
14. Amani H, Ajami M, Nasser Maleki S, Pazoki-Toroudi H, Daglia M, Tsetegho Sokeng AJ, et al. Targeting signal transducers and activators of transcription (STAT) in human cancer by dietary polyphenolic antioxidants. *Biochimie*. 2017;142:63–79. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.08.007>
15. Omidian K, Rafiei H, Bandy B. Polyphenol inhibition of benzo[a]pyrene-induced oxidative stress and neoplastic transformation in an *in vitro* model of carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology*. 2017;106:165–174. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.05.037>
16. Mahendran G, Ponnuchamy K. Coumarin-gold nanoparticle Coumarin-gold nanoparticle bioconjugates: preparation, antioxidant, and cytotoxic effects against MCF-7 breast cancer cells. *Applied Nanoscience*. 2018;8:447–453. <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0816-7>
17. Campestrini LH, Melo PS, Peres LEP, Calheta RC, Ferreira ICFR, Alencar SM. A new variety of purple tomato as a rich source of bioactive carotenoids and its potential health benefits. *Heliyon*. 2019;5(11):e02831. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02831>
18. Oliveira-Alves ShC, Pereira RS, Pereira AB, Ferreira A, Mecha E, Bento da Silva A, et al. Identification of functional compounds in baru (*Dipteryx alata* Vog.) nuts: Nutritional value, volatile and phenolic composition, antioxidant activity and antiproliferative effect. *Food Research International*. 2020;131:109026. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109026>
19. Zhamanbayeva GT, Aralbayeva AN, Murzakhmetova MK, Tuleukhanov ST, Danilenko M. Cooperative antiproliferative and differentiation-enhancing activity of medicinal plant extracts in acute myeloid leukemia cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;82:80–89. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.04.062>
20. Lage NN, Layosa MAA, Arbizu S, Chew BP, Pedrosa ML, Mertens-Talcott S, et al. Dark sweet cherry (*Prunus avium*) phenolics enriched in anthocyanins exhibit enhanced activity against the most aggressive breast cancer subtypes without toxicity to normal breast cells. *Journal of Functional Foods*. 2020;6:103710. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103710>
21. Joanitti GA, Azevedo RB, Freitas SM. Apoptosis and lysosome membrane permeabilization induction on breast cancer cells by an anticarcinogenic Bowman-Birk protease inhibitor from *Vigna unguiculata* seeds. *Cancer Letters*. 2010;293(1):73–81. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2009.12.017>
22. Jeong J-H, Jung H, Lee S-R, Lee H-J, Hwang KT, Kim T-Y. Anti-oxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black raspberry fruits and wine. *Food Chemistry*. 2010;123(2):338–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.040>
23. Luo C, Zhang H. The role of proinflammatory pathways in the pathogenesis of colitis-associated colorectal cancer. *Mediators of Inflammation*. 2017;2017:5126048. <https://doi.org/10.1155/2017/5126048>

24. Agrawal U, Kumari N, Vasudeva P, Mohanty NK, Saxena S. Overexpression of COX2 indicates poor survival in urothelial bladder cancer. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2018;34:50–55. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2018.01.008>
25. Li W, Lin S, Li W, Wang W, Li X, Xu D. IL-8 interacts with metadherin promoting proliferation and migration in gastric cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016;478(3):1330–1337. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.08.123>
26. Issy AC, Nascimento GC, de Abreu GHD, Tristão FS, Del-Bel E, Duarte T, et al. Differential behavioral and glial responses induced by dopaminergic mechanisms in the iNOS knockout mice. *Behavioural Brain Research*. 2018;35:44–53. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.05.002>
27. Wu HX, Cheng X, Jing X-Q, Ji X-P, Chen X-Z, Zhang Y-Q, et al. LIFR promotes tumor angiogenesis by up-regulating IL-8 levels in colorectal cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2018;1864(9):2769–2784. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.05.004>
28. Chang C-Y, Chen J-Y, Chen S-H, Cheng T-J, Lin M-T, Hu M-L. Therapeutic treatment with ascorbate rescues mice from heat stroke-induced death by attenuating systemic inflammatory response and hypothalamic neuronal damage. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016;93:84–93. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.017>
29. Alfaro C, Sanmamed MF, Rodríguez-Ruiz ME, Teijeira Á, Onate C, González Á, et al. Interleukin-8 in cancer pathogenesis, treatment and follow-up. *Cancer Treatment Reviews*. 2017;60:24–31. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.08.004>
30. Shahat AA, Hidayathulla S, Khan AA, Alanazi AM, Meanazel OA, Alqahtani AS, et al. Phytochemical profiling, antioxidant and anticancer activities of *Gastrocotyle hispida* growing in Saudi Arabia. *Acta Tropica*. 2019;191:243–247. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.01.013>
31. Omoni AO, Aluko RE. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science & Technology*. 2005;16(8):344–350. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.02.002>
32. Md Roduan MR, Hamid RA, Cheah YK, Mohtarrudin N. Cytotoxicity, antitumor-promoting and antioxidant activities of *Annona muricata* *in vitro*. *Journal of Herbal Medicine*. 2019;15:100219. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.04.004>
33. Vannini F, Kashfi K, Nath N. The dual role of iNOS in cancer. *Redox Biology*. 2015;6:334–343. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.009>
34. Schroy PC, Brown-Shimer S, Kim K, Johnson KA, Murnane MJ, Yang S, et al. Detection of p21ras mutations in colorectal adenomas and carcinomas by enzyme-linked immunosorbent assay. *Cancer*. 1995;76(2):201–209. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19950715\)76:2<201::aid-cnrcr2820760207>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19950715)76:2<201::aid-cnrcr2820760207>3.0.co;2-t)
35. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, Foortan A, Jona'k J, Lind K, et al. The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine*. 2006;27:95–125. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.12.007>

#### **СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

**Еремеева Наталья Борисовна**,  
к.т.н., доцент кафедры технологии  
и организации общественного питания,  
Самарский государственный технический  
университет,  
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,  
Российская Федерация,  
✉ e-mail: eremeeva.nb.samgtu@gmail.com

**Макарова Надежда Викторовна**,  
д.х.н., профессор, заведующая кафедрой  
технологии и организации общественного  
питания,  
Самарский государственный технический  
университет,  
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,  
Российская Федерация,  
e-mail: makarovnv1969@yandex.ru

**Игнатова Динара Фанисовна**,  
к.т.н., доцент кафедры технологии  
и организации общественного питания,  
Самарский государственный технический  
университет,

#### **INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

**Natalya B. Eremeeva**,  
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,  
Department of Technology and Organization  
of Catering,  
Samara State Technical University,  
244, Molodogvardeiskaya St., Samara, 443100,  
Russian Federation,  
✉ e-mail: eremeeva.nb.samgtu@gmail.com

**Nadezhda V. Makarova**,  
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,  
Head of Department of Technology  
and Organization of Catering,  
Samara State Technical University,  
244, Molodogvardeiskaya St., Samara, 443100,  
Russian Federation,  
e-mail: makarovnv1969@yandex.ru

**Dinara F. Ignatova**,  
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,  
Department of Technology and Organization  
of Catering  
Samara State Technical University,

443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244  
Российская Федерация,  
e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

**Бахарев Владимир Валентинович,**  
д.х.н., профессор, декан факультета пищевых  
производств,  
Самарский государственный технический  
университет,  
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244  
Российская Федерация,  
e-mail: fpp@samgtu.ru

***Заявленный вклад авторов***

Все авторы сделали эквивалентный вклад  
в подготовку публикации.

***Конфликт интересов***

Авторы заявляют об отсутствии конфликта ин-  
тересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-  
тельный вариант рукописи.*

*Статья поступила в редакцию 21.11.2020;  
одобрена после рецензирования 21.10.2020;  
принята к публикации 30.11.2020.*

244, Molodogvardeiskaya St., Samara, 443100,  
Russian Federation,  
e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

**Vladimir V. Bakharev,**  
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,  
Dean of Faculty of Food Production,  
Samara State Technical University,  
244, Molodogvardeiskaya St., Samara, 443100,  
Russian Federation,  
e-mail: fpp@samgtu.ru

***Contribution of the authors***

The authors contributed equally to this article.

***Conflict interests***

The authors declare no conflict of interests re-  
garding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved  
by all the co-authors.*

*The article was submitted 21.11.2020;  
approved after reviewing 21.10.2020;  
accepted for publication 30.11.2020.*