

УДК 615.277.3:616-006-036.8:582.711.71

РАЗРАБОТКА СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПЛОДОВ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ (*ARÓNIA MELANOCÁRPA (MICHX.) ELLIOT*), ПОВЫШАЮЩЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

© *В.Ю. Андреева*¹, *В.В. Шейкин*¹, *Г.И. Калинкина*¹, *Т.Г. Разина*², *Е.П. Зуева*², *О.Ю. Рыбалкина*²,
*А.В. Ульрих*²

¹ *Сибирский государственный медицинский университет,
Московский тракт, 2, Томск, 634050 (Россия), e-mail: vilival@yandex.ru*

² *Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной
медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный
исследовательский медицинский центр РАН, пр. Ленина, 3, Томск, 634028
(Россия)*

Плоды аронии черноплодной являются официальным лекарственным сырьем и используются как поливитаминное средство. Арония черноплодная имеет гарантированную сырьевую базу, так как культивируется во многих регионах России и является перспективным источником фенольных соединений для разработки новых лекарственных средств.

Цель данной работы – разработка оптимальных условий экстрагирования комплекса биологически активных соединений из плодов аронии черноплодной и оценка его антиметастатической активности.

Экстракты из плодов аронии получали методом противоточной многоступенчатой реперколяции с законченным циклом. Оценку факторов, влияющих на процесс экстрагирования сырья, проводили методом математического планирования по латинскому квадрату. Предложена технология получения жидкого экстракта плодов аронии черноплодной со следующими параметрами: экстрагент – 95% подкисленный спирт этиловый, соотношение фаз – 1 : 5, количество перколяторов не менее 5.

Содержание биологически активных веществ в экстракте, полученном 95% подкисленным спиртом этиловым, определяли общепринятыми методами. В составе экстракта определили содержание антоцианов (5.83±0.25%), катехинов (0.22±0.02%), дубильных веществ (4.65±0.30%), фенолокислот (0.27±0.01%) и другие биологически активные вещества. Для оценки противоопухолевых свойств экстракта плодов аронии черноплодной использовали модель карциномы легких Льюис. Выявлено, что предлагаемый экстракт достоверно ингибирует развитие метастазов и повышает противоопухолевую активность циклофосфана в комбинированном лечении, представляет интерес в качестве средства для повышения эффективности химиотерапии опухолей.

Ключевые слова: экстракт плодов аронии черноплодной, антоцианы, катехины, карцинома легких Льюис, антиметастатическая активность.

Введение

Плоды аронии черноплодной являются официальным лекарственным растительным сырьем –

Андреева Валерия Юрьевна – доцент кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, e-mail: vilival@yandex.ru

Шейкин Владимир Викторович – доцент кафедры фармацевтической технологии, e-mail: vilival@yandex.ru

Калинкина Галина Ильинична – заведующий кафедрой фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, e-mail: galina_kalinkina@mail.ru

Разина Татьяна Георгиевна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории онкофармакологии, e-mail: razinatg22@gmail.com

Окончание на С. 220.

Aróniae melanocárpae fructus. Арония черноплодная – *Arónia melanocáarpa (Michx.) Elliot*, сем. *Rosaceae*, культивируется практически во всех регионах России и других странах.

Зрелые плоды аронии черноплодной содержат флавоноиды (в том числе антоцианы, катехины), дубильные вещества, кофейные кислоты и другие биологически активные вещества. По данным литературы, преобладающей группой биологически активных веществ в плодах аронии черноплодной являются антоцианы (25% от суммы фенольных соединений). Они представлены смесью четырех

* Автор, с которым следует вести переписку.

цианидиновых гликозидов: цианидин 3-галактозид, цианидин 3-глюкозид, цианидин 3-арабинозид и цианидин 3-ксилозид [1–3]. Флавонолы составляют всего 1.3% от общего содержания фенольных соединений плодов черноплодной рябины и представлены пятью различными гликозидами кверцетина. Фенольные соединения обладают высокой антиоксидантной активностью [1, 4] и, таким образом, могут снижать риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы, злокачественных новообразований, инфекций, а также влияют на свертываемость крови. Высокое содержание в плодах аронии черноплодной антоцианов, катехинов и других биологически активных веществ обуславливают разнообразие фармакологического действия данного лекарственного сырья, а значит и его применения в медицине. В медицине используются: аронии черноплодной плоды, комплексный препарат «Арония+С», «Кедровит», сок аронии черноплодной используется как вспомогательное вещество в препарате «Биоарон С». Данные препараты оказывают адаптогенное, спазмолитическое, гипотензивное, диуретическое, желчегонное, антиатеросклеротическое, С- и Р-витаминное действие [5, 6].

В настоящее время большое внимание исследователей привлекает поиск веществ, обладающих цитостатическим действием, а также веществ, способных повысить эффективность химиотерапии либо снизить ее токсичность. Это возможно при включении в схему лечения препаратов-корректоров природного происхождения. Наибольший интерес представляют флавоноидсодержащие растения в связи с тем, что содержащиеся в них флавоноиды проявляют антиоксидантную активность, связывая свободные радикалы, уменьшают их концентрацию в клеточных мембранах, защищая молекулы ДНК от повреждающего влияния интермедиантов и перекисления [7]. Кроме того, антоцианы способны стимулировать дифференцировку опухолевых клеток и проявляют проапоптотическую активность [8, 9]. Плоды аронии черноплодной, являясь официальным лекарственным сырьем и обладая достаточной сырьевой базой, несомненно, представляют интерес для дальнейшего изучения фармакологических свойств и расширения области их применения, в том числе в онкологии.

Цель данной работы – разработка оптимальных условий экстрагирования комплекса биологически активных соединений из плодов аронии черноплодной и оценка его антиметастатической активности.

Экспериментальная часть

Для получения жидкого экстракта, содержащего комплекс биологически активных веществ, использовали плоды аронии черноплодной (*Arónia melanocárpa (Michx.) Elliot*, сем. *Rosaceae*), культивируемой в окрестностях г. Томска и собранные в 2018 году в период полного созревания. Плоды сушили тепловой конвекторной сушкой при температуре 40–50 °С до воздушно-сухого состояния. Влажность в плодах определяли по методикам Государственной фармакопеи [10]. Содержание антоцианов определяли по разработанной нами методике, основанной на измерении спектров поглощения водно-спиртовых извлечений плодов аронии черноплодной [11].

Экстракты из плодов аронии получали методом противоточной многоступенчатой реперколяции с законченным циклом. Оценку факторов, влияющих на процесс экстрагирования сырья, проводили методом математического планирования по латинскому квадрату [12, 13]. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили общепринятым методом [14] и использовали пакет прикладных программ «Statistica 13.0».

Содержание биологически активных веществ в экстракте, полученном по предлагаемой нами технологии спиртом этиловым 95%-ным, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, определяли общепринятыми методами: количественное определение флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом с использованием комплексообразующей реакции с 5% спиртовым раствором алюминия хлорида [10]. Показания снимали на спектрофотометре СФ-2000. Расчет суммы флавоноидов проводили

Зуева Елена Петровна – доктор биологических наук, заведующий лабораторией онкофармакологии, e-mail: zep0929@mail.ru

Рыбалкина Ольга Юрьевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории онкофармакологии, e-mail: olgatomsk87@gmail.com

Ульрих Алина Валерьевна – лаборант-исследователь лаборатории онкофармакологии, e-mail: galiulina_1992@mail.ru

с использованием удельного показателя поглощения ($E_{1cm}^{1\%}$) комплекса рабочего стандартного образца (РСО) рутина с алюминия хлоридом при длине волны 415 нм равного 260 [10]. Определение фенолокислот и антоцианов в исследуемом экстракте проводили методом прямой спектрофотометрии. В качестве стандартных образцов использовали кислоту хлорогеновую (фенолокислоты)

и цианидин-3-О-глюкозид (антоцианы). Содержание фенолокислот определяли по удельному показателю поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) кислоты хлорогеновой, который при длине волны 327 ± 2 нм составляет 507 [10]. Для расчета суммы антоцианов в экстрактах плодов аронии использовали удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) известного вещества цианидин-3-О-глюкозида, который при длине волны 542 ± 2 нм составляет 100 [11], катехины определяли спектрофотометрическим методом, основанным на образовании комплекса свободных катехинов с железо-тарtratным реактивом в присутствии фосфатного буфера [15]. Аскорбиновую кислоту и органические кислоты – титриметрическим методом [14]. Сухой остаток определяли с помощью весового влагомера MS-70 («AND», Япония).

Для оценки противоопухолевых свойств экстракта плодов аронии черноплодной эксперимент выполнен на 110 конвенциональных мышах-самках линии C57BL/6 (массой 20 г в возрасте 3 мес.) 1-й категории (сертификат имеется), полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (Томский НИМЦ). Содержание животных осуществляли по правилам, принятым Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Эксперименты проведены в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» [16], Федеральным законом «О лекарственных средствах» [17], «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [18]. Дизайн экспериментов одобрен Этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (Томский НИМЦ).

Карциному легких Льюис (LLC) перевивали внутримышечно по $5 \cdot 10^6$ клеток в 0.1 мл физиологического раствора [19]. Экстракты деалкоголизировали на водяной бане и водный остаток вводили мышам внутрижелудочно в дозах 1 и 5 мл/кг ежедневно с 7 суток после перевивки опухоли в течение 11 суток. В экспериментах применяли алкилирующий цитостатический препарат циклофосфан (ЦФ) производства ОАО «Биохимик» (Россия), который вводили мышам однократно внутрибрюшинно в дозе 125 мг/кг (на 11 сутки).

По окончании экспериментов (21 сутки) мышей выводили из эксперимента путем дислокации шейного отдела позвоночника, соблюдая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденные МЗ РФ. Определяли массу первичной опухоли, подсчитывали количество и площадь метастазов в легких, вычисляли торможение роста опухоли (ТРО), частоту метастазирования и индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) в процентах [19].

Обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона-Манна-Уитни (U) и углового преобразования Фишера (ϕ). Различия считали достоверными при $P < 0.05$ [20].

Обсуждение результатов

В результате оценки качества плодов аронии черноплодной, используемых для получения жидких водно-спиртовых экстрактов, было установлено, что влажность сырья составила $3.91\pm 0.03\%$; содержание антоцианов – $5.24\pm 0.15\%$.

Для выявления наиболее значимых факторов, влияющих на процесс экстрагирования и сокращения количества экспериментов, использовали методику математического планирования по латинскому квадрату. В качестве изучаемых факторов выбрали: концентрацию спирта, количество диффузоров, соотношение экстрагента и сырья. Количество диффузоров составляло 3, 4, 5. Соотношение сырья к экстрагенту – 1 : 2, 1 : 3, 1 : 5. Концентрация спирта этилового, содержащего 1% кислоты хлористоводородной концентрированной: 40, 70 и 95%. Экстракцию проводили в течение 24 ч. Степень влияния того или иного фактора на степень извлечения определяли по содержанию антоцианов и катехинов в полученном извлечении. Полученные результаты представлены в таблице 1 и 2.

Анализ данных, представленных в таблице 1 и 2, свидетельствует о том, что для максимального извлечения антоцианов из плодов аронии черноплодной имеет значение количество диффузоров и концентрация спирта этилового в качестве экстрагента; соотношение фаз оказывало незначительное влияние. На выход катехинов из сырья оказывает влияние только количество диффузоров. Таким образом, по результатам исследований установлено, что наиболее полная экстрагируемость плодов аронии черноплодной возможна при следующем режиме экстракции: экстрагент – спирт этиловый 95%, содержащий 1% кислоты хлористоводородной концентрированной; соотношение сырье – экстрагент 1 : 5; диффузоров в батарее должно быть не менее пяти.

Готовый экстракт, полученный 95% спиртом этиловым подкисленным, отстаивали при температуре не выше +10 °С не менее 2 суток до получения прозрачной жидкости, затем фильтровали и хранили при температуре не выше +5 °С в защищенном от света месте. Жидкий экстракт плодов аронии черноплодной представляет собой рубиново-красную жидкость, с легким фруктовым запахом терпко-вяжущего вкуса. В экстракте определяли содержание биологически активных веществ (БАВ). Полученные результаты представлены в таблице 3.

Стандартизацию экстракта для фармакологического исследования проводили по показателям: сухой остаток экстракта (15,00±0,27%), содержание антоцианов в экстракте (5.83±0.25%).

В эксперименте обнаружено, что у мышей-самок линии С57ВL/6 с карциномой легких Льюис, получавших экстракт плодов аронии в дозах 1 и 5 мл/кг, масса легких с метастазами и площадь метастатического поражения оказалась достоверно (в 1.4 и 1.2 раза; и в 2.7 и 1.7 раза) меньше контрольного значения соответственно (табл. 4).

Таблица 1. Влияние технологических факторов на процесс извлечения антоцианов из плодов аронии черноплодной

Планирование эксперимента		
$A_1B_1C_3$	$A_2B_1C_2$	$A_3B_1C_1$
$A_1B_2C_1$	$A_2B_2C_3$	$A_3B_2C_2$
$A_1B_3C_2$	$A_2B_3C_1$	$A_3B_3C_3$
Влияние факторов на процесс извлечения антоцианов, % на сухой остаток экстракта		
4.02	4.81	5.57
2.22	5.38	5.87
4.57	4.58	8.07
F (по А)=67.9312 Значимо	F (по В)=13.6530 Незначимо	F (по С)=23.4114 Значимо
F (табл.)=19.00003, P=0.05		

Таблица 2. Влияние технологических факторов на процесс извлечения катехинов из плодов аронии черноплодной

Планирование эксперимента		
$A_1B_1C_3$	$A_2B_1C_2$	$A_3B_1C_1$
$A_1B_2C_1$	$A_2B_2C_3$	$A_3B_2C_2$
$A_1B_3C_2$	$A_2B_3C_1$	$A_3B_3C_3$
Влияние факторов на процесс извлечения катехинов, % на сухой остаток экстракта		
0.06	0.081	0.18
0.09	0.11	0.18
0.09	0.19	0.22
F (по А)=49.00418 Значимо	F (по В)=13.54023 Незначимо	F (по С)=5.76064 Незначимо
F (табл.)=19.00003, P=0.05		

Таблица 3. Результаты количественного определения основных групп БАВ в экстракте аронии черноплодной, полученном спиртом этиловым 95%, содержащем 1% кислоты хлористоводородной концентрированной

БАВ	Содержание БАВ, % на сухой остаток экстракта
Антоцианы	5.83±0.25
Флавоноиды	3.25±0.20
Фенолокислоты	0.27±0.01
Катехины	0.24±0.02
Органические кислоты	4.70±0.40
Аскорбиновая кислота	0.87±0.02

Таблица 4. Влияние экстракта плодов аронии черноплодной на развитие процесса метастазирования карциномы лёгких Льюис и антиметастатическое действие циклофосфана у мышей-самок линии C57BL/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (X±m)	Площадь метастазов на 1 мышь (X±m), мм ²	Масса легких (X±m), мг	ИИМ, %
1. Контроль* (10)	100	29.30±3.07	78.62±15.12	263.70±15.44	–
2. ЦФ, 125 мг/кг×1 (10)	100	15.10±2.95 1-2P<0.01	6.98±2.42 1-2P<0.01	217.40±12.32 1-2P<0.05	48
3. Экстракт плодов аронии, 1 мл/кг×12 (10)**	100	28.90±4.35	29.54±6.43 1-3P<0.01	195.00±7.11 1-3P<0.01	1.4
4. Экстракт плодов аронии, 5 мл/кг×12 (10)**	100	38.20±8.19	46.94±12.60 1-4P<0.05	219.40±14.80 1-4P<0.05	30
5. ЦФ+экстракт плодов аронии, 1 мл/кг×12 (10)**	80 2-5P<0.01	7.50±4.16 2-5P<0.05	2.05±0.94 2-5P<0.05	216.10±17.71	80
6. ЦФ+экстракт плодов аронии, 5 мл/кг×12 (10)**	50 2-6P<0.01	1.20±0.57 2-6P<0.01	0.46±0.34 2-6P<0.01	205.20±6.94	98

– перед уровнем значимости P указаны номера сравниваемых групп; * контроль – животные с опухолью без лечения; ** содержание антоцианов в 1 мл экстракта аронии на 95 % подкисленном этаноле в расчете на сухой остаток составляет 45 мг; в 5 мл экстракта – 225 мг.

После введения животным циклофосфана снизилось количество и площадь метастазов (в 1.9 и 11.3 раза; P<0.01), масса легких уменьшилась в 1.2 раза (P<0.05), однако опухоль метастазировала, как и в контроле, в 100% случаев; индекс ингибирования метастазирования составил 48%. В то же время у животных, получавших комбинированное лечение, выявлено повышение противометастатического действия цитостатика. Так, при добавлении в схему химиотерапии экстракта плодов аронии в дозе 1 мл/кг достоверно снизилось количество и площадь метастазов (в 2.0 и 3.4 раза, P<0.05) по сравнению с этими показателями у мышей, получавших только цитостатик, ИИМ повысился до 80% против 48%. В случае введения в схему цитостатического лечения экстракта плодов аронии в дозе 5 мл/кг все показатели процесса диссеминации также снизились по сравнению с таковыми у животных, получавших монохимиотерапию: количество и площадь метастазов оказались меньше в 2.0 и 12.6 раза, (P<0.01); ИИМ в данной группе достиг максимальных значений и составил 98% (табл. 4).

Частота метастазирования в обеих группах комбинированного лечения оказалась достоверно меньше соответствующего контрольного показателя и составила 80% (1 мл/кг) и 50% (5 мл/кг) против 100% у леченных только цитостатиком животных (табл. 4).

Достоверного влияния жидкого экстракта плодов аронии в обеих изучаемых дозах на первичный опухолевый узел, как в изолированном режиме введения, так и при использовании в схеме химиотерапии не выявлено.

Таким образом, в эксперименте на мышках-самках линии C57BL/6 с перевитой карциномой легких Льюис показана способность жидкого экстракта плодов аронии черноплодной ингибировать развитие метастазов и повышать антиметастатическое действие циклофосфана.

Выводы

1. Предложена технология получения жидкого экстракта из плодов аронии черноплодной, обогащенного антоцианами и катехинами, методом противоточной многоступенчатой реперколяции с законченным циклом со следующими параметрами: экстрагент – спирт этиловый 95%, содержащий 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, соотношение фаз сырье : экстрагент – 1 : 5, количество перколяторов не менее 5.

2. В составе экстракта, полученного спиртом этиловым 95%, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, определили содержание антоцианов (5.83±0.25%), катехинов (0.22±0.02 %), фенолокислот (0.27±0.01%) и других биологически активных веществ.

3. В эксперименте на мышках-самках линии C57BL/6 с перевитой карциномой легких Льюис показана способность жидкого экстракта плодов аронии черноплодной, полученного спиртом этиловым 95%, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, ингибировать развитие метастазов и повы-

шать антиметастатическое действие циклофосфана в комбинированном лечении. Целесообразно дальнейшее исследование экстракта плодов аронии черноплодной, полученного спиртом этиловым 95%, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, в качестве средства для повышения эффективности химиотерапии опухолей.

Список литературы

1. Oszmiański J., Wojdyło A. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity // European Food Research and Technology. 2005. Vol. 221. Pp. 809–813. DOI: 10.1007/s00217-005-0002-5.
2. Рудаков О.Б., Хайрутдинова А.Д., Один А.П., Болотов В.М. Фракционный состав антоциановых красителей из растительных экстрактов и контроль над ними методом ВЭЖХ // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2004. №1. С. 85–93.
3. Strigl A.W., Leitner E., Pfannhauser W. Qualitative und quantitative analyse der anthocyane in Schwarzen Apfelbeeren (*Aronia melanocarpa Michx.*) mittels TLC, HPLC und UV/VIS-Spektrometrie // Z Lebensm Unters Forsch. 1995. Vol. 201. Pp. 266–268. DOI: 10.1007/BF01193001.
4. Prakash D., Kumar N. Cost Effective Natural Antioxidants. Nutrients, Dietary Supplements, and Nutraceuticals. Nutrition and Health. Humana Press, 2011. Pp 163–187. DOI: 10.1007/978-1-60761-308-4_12.
5. VIDAL Справочник лекарственных средств. [Электронный ресурс] URL: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule/1760>
6. Государственный реестр лекарственных средств. Кедровит. [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=1d725aa6-9317-49f3-9754-1e07870e1027&t=
7. Ruginã D., Diaconeasa Z., Leopold L., Pintea A., Bunea A., Socaciu C. Antioxidant activities of Chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa Human Cervical Tumor Cells // Journal of medicinal food. 2012. N15(8). Pp. 700–706. DOI: 10.1089/jmf.2011.0246.
8. Serafino A. Differentiation of human melanoma cells induced by cyaniding-3-O-beta-glucopyranoside // FAS EB J. 2004. Vol. 18. Pp. 1940–1942. DOI: 10.1134/S1068162018070038.
9. Fimognari C. Antitumor Effects of Anthocyanins: Focus on Apoptosis // Natural compounds as inducers of cell death. Springer, Dordrecht, 2012. Vol. 1. Pp. 49–68. DOI: 10.1007/978-94-007-4575-9_3.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М.: Минздрав России, 2018. Т. 4. 1294 с.
11. Андреева В.Ю., Калинкина Г.И., Коломиец Н.Э. и др. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной // Фармация. 2013. №3. С. 19–21.
12. Маркова Е.В. Руководство по применению латинских планов при планировании эксперимента с качественными факторами. Челябинск, 1971. 152 с.
13. Григорьев С.Г., Кувакин В.И., Николаевич М.С., Юннкеров В.И. Применение теории планирования эксперимента в медицинских исследованиях (включая персональный компьютер и пакет статистических программ Statistica for Windows). СПб.: ВМедА, 1999. 86 с.
14. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М.: Минздрав России, 2018. Т. 2. 1294 с.
15. Красникова Е.В. Разработка технологии натурального пищевого красителя из аронии черноплодной с использованием искусственного холода: дис. ... канд. техн. наук. Санкт-Петербург, 2003. 148 с.
16. Приказ Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении Правил лабораторной практики» (Зарегистрировано в Минюсте РФ 25.06.2003 № 4809) [Электронный ресурс]: КонсультантПлюс -надежная правовая поддержка. Официальный сайт компании «КонсультантПлюс». URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_43035/
17. Федеральный закон № 86-ФЗ от 22.06.1998 «О лекарственных средствах»: Законы, кодексы и нормативно-правовые акты Российской Федерации. URL: <https://legalacts.ru/doc/federalnyi-zakon-ot-22061998-n-86-fz-o/>
18. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-изд. перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.
19. Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. М.: Медицина, 1980. 296 с.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М.: Минздрав России, 2018. Т. 1. 1294 с.

Поступила в редакцию 3 сентября 2019 г.

После переработки 21 апреля 2020 г.

Принята к публикации 14 мая 2020 г.

Для цитирования: Андреева В.Ю., Шейкин В.В., Калинкина Г.И., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Рыбалкина О.Ю., Ульрих А.В. Разработка средства на основе плодов аронии черноплодной (*Arónia melanocárpa (Michx.) Elliot*), повышающего эффективность химиотерапии опухолей // Химия растительного сырья. 2020. №4. С. 219–226. DOI: 10.14258/jcrpm.2020046339.

Andreyeva V.Yu.^{1*}, Sheykin V.V.¹, Kalinkina G.I.¹, Razina T.G.², Zuyeva Ye.P.², Rybalkina O.Yu.², Ul'rikh A.V.² DEVELOPMENT OF A DRUG BASED ON THE FRUITS OF CHOKEBERRY (*ARÓNIA MELANOCÁRPA* (*MICHX.*) *ELLIOT*) IMPROVING THE EFFICIENCY OF CANCER CHEMOTHERAPY

¹ Siberian State Medical University, Moskovskiy trakt, 2, Tomsk, 634050 (Russia), e-mail: vilival@yandex.ru

² Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg, Tomsk National Research Medical Center RAS, pr. Lenina, 3, Tomsk, 634028 (Russia)

Black chokeberry is an official drug raw material and is used as a multivitamin drug. Black chokeberry guarantees the supply of raw materials as it grows all over the Russian Federation and is a promising source of phenolic compounds for new drugs.

Objective: to develop the most favorable conditions for extraction of bioactive compounds from black chokeberry and to assess its anti-metastatic activity.

To extract bioactive compounds from black chokeberry the method of multistep reprecipitation with completed cycle was used. To assess the factors controlling the raw material extraction the technique of mathematic simulation for latin square. The technique of liquid anthocyanins and catechins rich black chokeberry extraction was given with the following parameters: extractant – 95% acidified alcohol, phase relation – 1 : 5, number of percolators – 5.

The content of biologically active substances in the extract obtained with 95% acidified ethyl alcohol was determined by conventional methods. In the composition of the extract, the content of anthocyanins (5.83±0.25%), catechins (0.22±0.02%), tannins (4.65±0.30%), phenolic acids (0.27±0.01%) and other biologically active substances was determined. To assess the anti-tumor properties of the chokeberry fruit extract, the Lewis lung carcinoma model was used. It was found that the proposed extract reliably inhibits the development of metastases and increases the antimetastatic activity of cyclophosphamide in combined treatment, is of interest as a means for increasing the effectiveness of tumor chemotherapy.

Keywords: Black chokeberry, technology of extracts, Aronia fruit extract, anthocyanins, catechins, Lewis lung carcinoma, antimetastatic activity.

References

1. Oszmiański J., Wojdyło A. *European Food Research and Technology*, 2005, vol. 221, pp. 809–813. DOI: 10.1007/s00217-005-0002-5.
2. Rudakov O.B., Khayrutdinova A.D., Odin A.P., Bolotov V.M. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2004, no. 1, pp. 85–93. (in Russ.).
3. Strigl A.W., Leitner E., Pfannhauser W. *Z Lebensm Unters Forsch*, 1995, vol. 201, pp. 266–268. DOI: 10.1007/BF01193001.
4. Prakash D., Kumar N. *Cost Effective Natural Antioxidants. Nutrients, Dietary Supplements, and Nutraceuticals. Nutrition and Health*, Humana Press, 2011, pp 163–187. DOI: 10.1007/978-1-60761-308-4_12.
5. *VIDAL Spravochnik lekarstvennykh sredstv* [VIDAL Directory of medicines] [Electronic resource] URL: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule/1760> (in Russ.).
6. *Gosudarstvennyy reyestr lekarstvennykh sredstv. Kedrovit*. [State register of medicines. Kedrovit] [Electronic resource]. URL: [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=1d725aa6-9317-49f3-9754-1e07870e1027&t=\(in Russ.\)](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=1d725aa6-9317-49f3-9754-1e07870e1027&t=(in Russ.))
7. Ruginǎ D., Diaconeasa Z., Leopold L., Pinteá A., Bunea A., Socaciu C. *Journal of medicinal food*, 2012, no. 15(8), pp. 700–706. DOI: 10.1089/jmf.2011.0246.
8. Serafino A. *FAS EB J.*, 2004, vol. 18, pp. 1940–1942. DOI: 10.1134/S1068162018070038.
9. Fimognari C. *Natural compounds as inducers of cell death*, Springer, Dordrecht, 2012, vol. 1, pp. 49–68. DOI: 10.1007/978-94-007-4575-9_3.
10. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018, vol. 4, 1294 p. (in Russ.).
11. Andreyeva V.Yu., Kalinkina G.I., Kolomyets N.E. et al. *Farmatsiya*, 2013, no. 3, pp. 19–21. (in Russ.).
12. Markova Ye.V. *Rukovodstvo po primeniyu latinskikh planov pri planirovanií eksperimenta s kachestvennyimi faktorami*. [Guidance on the use of Latin plans when planning an experiment with qualitative factors]. Chelyabinsk, 1971, 152 p. (in Russ.).
13. Grigor'yev S.G., Kuvakin V.I., Nikolayevich M.S., Yunnkerov V.I. *Primeneniye teorii planirovaniya eksperimenta v meditsinskikh issledovaniyakh (vkluychaya personal'nyy komp'yuter i paket statisticheskikh programm Statistica for Windows)*. [Application of experimental design theory in medical research (including personal computer and statistical software package Statistica for Windows)]. St. Petersburg, 1999, 86 p. (in Russ.).
14. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018, vol. 2, 1294 p. (in Russ.).
15. Krasnikova Ye.V. *Razrabotka tekhnologii natural'nogo pishchevogo krasitelya iz aronii chernoplodnoy s ispol'zovaniyem iskusstvennogo kholoda: dis. ... kand. tekhn. nauk*. [Development of the technology of natural food coloring from chokeberry using artificial cold: dis. ... Cand. tech. sciences]. St. Petersburg, 2003, 148 p. (in Russ.).
16. *Prikaz Minzdrava RF № 267 ot 19.06.2003 «Ob utverzhdenii Pravil laboratornoy praktiki» (Zaregistrirvano v Minyuste RF 25.06.2003 № 4809)* [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 267 of 19.06.2003 "On the approval of the Rules of laboratory practice" (Registered in the Ministry of Justice of the Russian Federation on 25.06.2003 No. 4809)]: URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_43035/ (in Russ.).

* Corresponding author.

17. *Federal'nyy zakon № 86-FZ ot 22.06.1998 «O lekarstvennykh sredstvakh»* [Federal Law No. 86-FZ of 22.06.1998 "On Medicines"]: URL: <https://legalacts.ru/doc/federalnyi-zakon-ot-22061998-n-86-fz-o/> (in Russ.).
18. Khabriyev R.U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*. [Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow, 2005, 832 p. (in Russ.).
19. Sofina Z.P., Syrkin A.B., Goldin A., Klyayn A. *Eksperimental'naya otsenka protivoopukholevykh preparatov v SSSR i SSHA*. [Experimental evaluation of anticancer drugs in the USSR and the USA]. Moscow, 1980, 296 p. (in Russ.).
20. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018, vol. 1, 1294 p. (in Russ.).

Received September 3, 2019

Revised April 21, 2020

Accepted May 14, 2020

For citing: Andreyeva V.Yu., Sheykin V.V., Kalinkina G.I., Razina T.G., Zuyeva Ye.P., Rybalkina O.Yu., Ul'rikh A.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 219–226. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020046339.