



## МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ АСПЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ БАРБАРИСА ОБЫКНОВЕННОГО И БЕЛОКОПЫТНИКА ГИБРИДНОГО НА КЛЕТОЧНУЮ ЛИНИЮ HeLa

Е. Ю. Златник<sup>1</sup>, Я. С. Енин<sup>1</sup>✉, О. Н. Буров<sup>2</sup>, Е. С. Бондаренко<sup>1</sup>, А. Б. Сагалянц<sup>1</sup>,  
Д. С. Кутилин<sup>1</sup>, Ю. В. Дзигунова<sup>2</sup>, О. Г. Ишонина<sup>1</sup>, Е. В. Шалашная<sup>1</sup>, Н. Д. Ушакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>2</sup> Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ [Dendro51@yandex.ru](mailto:Dendro51@yandex.ru)

### Резюме

**Цель исследования.** Выделить и верифицировать чистые фракции вторичных метаболитов растений, содержащихся в *B. vulgaris* (L.) и *P. hybridus* (L.), а также провести модельный эксперимент и молекулярно-генетическое исследование для оценки их цитотоксического действия в условиях *in vitro* на клеточной линии HeLa.

**Материалы и методы.** Выделение и верификация всех использованных в эксперименте соединений проводили методами колоночной хроматографии и ядерно-магнитного резонанса на кафедре природных соединений химического факультета Южного федерального университета. Дальнейший эксперимент выполнен с использованием культуральных и молекулярных методов на клеточной линии HeLa в трех повторах для каждого исследуемого соединения, после инкубации с которыми проводили учет количества мертвых клеток на автоматическом счетчике NanoEnTek JuliFl, а также измерение количества клеток в состоянии апоптоза методом проточной цитофлуориметрии на анализаторе BD FACSCanto II. Оценку уровня копийности и экспрессии генов, ответственных за апоптоз, выполняли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (RT-PCR). Всего исследовали 3 вещества, по 2 концентрации (4 и 12 мкг/мл) и 2 экспозиции (24 и 72 часа) каждого из них.

**Результаты.** На первом этапе исследования были выделены и верифицированы алкалоид берберин, экстрагированный из корней *B. vulgaris* (L.), а также 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one и 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde из *P. hybridus* (L.). На следующем этапе исследования было обнаружено, что клеточная гибель была максимальной под действием берберина при экспозиции 72 часа. Однако оценка показателей копийности и экспрессии генов *CASP8*, *CASP9*, *CASP3*, *BAX*, *BCL2*, *TP53* и *MDM2* методом RT-PCR выявила наличие инициации апоптоза в опухолевых клетках на молекулярном уровне под действием всех исследованных соединений: как берберина, так и производных фурана и азулена, полученных из *P. hybridus* (L.).

**Заключение.** Все использованные в эксперименте соединения показали цитотоксическое действие на клеточную линию HeLa. Алкалоид берберин проявил наиболее выраженное цитотоксическое действие на линию HeLa зарегистрированное всеми используемыми в исследовании методами. Терпеноиды 4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one и 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde при воздействии на линию HeLa вызвали увеличение показателей копийности и экспрессии локусов *CASP9*, *CASP3* которые являются одним из основных активаторов апоптоза. Они же оказали влияние на экспрессию локусов *TP53* и *MDM2*.

### Ключевые слова:

вторичные метаболиты растений, апоптоз, экспрессия генов, копийность генов, клеточная линия HeLa

**Для цитирования:** Златник Е. Ю., Енин Я. С., Буров О. Н., Бондаренко Е. С., Сагалянц А. Б., Кутилин Д. С., Дзигунова Ю. В., Ишонина О. Г., Шалашная Е. В., Ушакова Н. Д. Молекулярно-клеточные аспекты воздействия вторичных метаболитов Барбариса обыкновенного и Белокопытника гибридного на клеточную линию HeLa. Research and Practical Medicine Journal (Исследования и практика в медицине). 2023; 10(4): 31-47. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2023-10-4-3> EDN: WNOCXO

**Для корреспонденции:** Енин Ярослав Сергеевич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63  
E-mail: [Dendro51@yandex.ru](mailto:Dendro51@yandex.ru)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4572-1579>, SPIN: 7683-2286, AuthorID: 840050, Scopus Author ID: 57196464479

**Финансирование:** финансирование данного исследования выполнено в рамках выполнения работы на соискание степени кандидатской диссертации «Изучение действия вторичных метаболитов растений на культуры опухолевых клеток и его молекулярно-генетических механизмов».

**Конфликт интересов:** все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 04.07.2023; одобрена после рецензирования 08.11.2023; принята к публикации 01.12.2023.

© Златник Е. Ю., Енин Я. С., Буров О. Н., Бондаренко Е. С., Сагалянц А. Б., Кутилин Д. С., Дзигунова Ю. В., Ишонина О. Г., Шалашная Е. В., Ушакова Н. Д., 2023

## MOLECULAR AND CELLULAR ASPECTS OF THE IMPACT OF SECONDARY METABOLITES FROM COMMON BARBERRY AND HYBRID GOAT'S RUE ON THE HELA CELL LINE

E. Yu. Zlatnik<sup>1</sup>, Ya. S. Enin<sup>1✉</sup>, O. N. Burov<sup>2</sup>, E. S. Bondarenko<sup>1</sup>, A. B. Sagakyants<sup>1</sup>, D. S. Kutilin<sup>1</sup>, Yu. V. Dzigunova<sup>2</sup>, O. G. Ishonina<sup>1</sup>, E. V. Shalashnaya<sup>1</sup>, N. D. Ushakova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>2</sup> Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ Dendro51@yandex.ru

### Abstract

**Purpose of the study.** To isolate and verify pure fractions of secondary plant metabolites contained in *B. vulgaris* (L.) and *P. hybridus* (L.), as well as to conduct a model experiment and molecular genetic study to evaluate their cytotoxic effect *in vitro* on the HeLa cell line.

**Materials and methods.** The isolation and verification of all compounds used in the experiment were carried out using column chromatography and nuclear magnetic resonance methods at the Department of Natural Compounds, Faculty of Chemistry, Southern Federal University. Subsequently, an experiment was conducted using cultural and molecular methods on the HeLa cell line in three repetitions for each test compound; after incubation with them, the numbers of dead cells were counted on the automated NanoEnTek JuliFl counter, and the numbers of cells in apoptosis were measured by flow cytometry on the BD analyzer FACS Canto II. The level of copy number variation and expression of genes responsible for apoptosis were assessed by real-time PCR (RT-PCR). In total, three substances were studied, with two concentrations (4 and 12 µg/ml) and two exposures (24 and 72 hours) for each of them.

**Results.** In the first stage of the study, we isolated and verified the berberine alkaloid extracted from the roots of *B. vulgaris* (L.), as well as 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one and 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde from *P. hybridus* (L.). The subsequent stage of the study demonstrated the maximal cellular death under the action of berberine at a 72-hour exposure. However, the RT-PCR assessment of the copy number variation and expression of the *CASP8*, *CASP9*, *CASP3*, *BAX*, *BCL2*, *TP53* and *MDM2* genes revealed the presence of apoptosis initiation in tumor cells at the molecular level under the action of all the studied compounds: both berberine and furan and azulene derivatives derived from *P. hybridus* (L.).

**Conclusion.** All compounds used in the experiment exhibited a cytotoxic effect on the HeLa cell line. Berberine alkaloid showed the most pronounced cytotoxic effect on the HeLa line as recorded by all methods used in the study. Terpenoids 4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one and 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde, when exposed to the HeLa line, caused an increase in the copy number variation and expression of the *CASP9*, *CASP3* loci, which are among the main activators of apoptosis. They also influenced the expression of *TP53* and *MDM2* loci.

### Keywords:

secondary plant metabolites, apoptosis, gene expression, copy number variation, HeLa cell line

**For citation:** Zlatnik E. Yu., Enin Ya. S., Burov O. N., Bondarenko E. S., Sagakyants A. B., Kutilin D. S., Dzigunova Yu. V., Ishonina O. G., Shalashnaya E. V., Ushakova N. D. Molecular and cellular aspects of the impact of secondary metabolites from common barberry and hybrid goat's rue on the HeLa cell line. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2023; 10(4): 31-47. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2023-10-4-3> EDN: WNOCXO

**For correspondence:** Yaroslav S. Enin – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: Dendro51@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4572-1579>, SPIN: 7683-2286, AuthorID: 840050, Scopus Author ID: 57196464479

**Funding:** this study was performed and funded as part of the PhD thesis titled 'Study of the Action of Secondary Metabolites of Plants on Tumor Cell Cultures and Its Molecular Genetic Mechanisms'.

**Conflict of interest:** the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 04.07.2023; approved after reviewing 08.11.2023; accepted for publication 01.12.2023.

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Рак шейки матки является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований у женщин [1, 2]. Химические соединения растительного происхождения для лечения злокачественных новообразований шейки матки и других нозологий привлекают все большее внимание химиотерапевтов как более щадящие по сравнению с синтетическими цитостатиками: не ослабляющие иммунную систему организма и менее токсичные для нормальных клеток [3]. Более того, есть данные о том, что соединения растительного происхождения способны стимулировать гибель опухолевых клеток, по путям, отличающимся от путей действия синтетических химиотерапевтических препаратов [4, 5]. Основываясь на этих фактах, в настоящее время продолжается поиск новых вторичных метаболитов растений, которые могут быть перспективными в разработке противоопухолевых препаратов [6–8].

Белокопытник гибридный *Petasites hybridus* (L.) Gaertn., В. Mey. & Scherb. семейства астровые Asteraceae широко применяем в традиционной китайской фитотерапии, содержит большое количество биологически активных соединений. Вещество сесквитерпен S-петазин, которое также было обнаружено как в Белокопытнике японском *Petasites japonicus* (Siebold & Zucc.) Maxim., так и в *P. hybridus* (L.), проявляет богатую биологическую активность, включая, цитотоксическое действие на пролиферацию клеток рака предстательной железы человека [9, 10].

Ареал распространения *P. hybridus* (L.) покрывает всю территорию Европы, Китай, а также он встречается в Турции. На территории Российской Федерации распространен в горных районах Краснодарского края и Республики Адыгея, является одним из представляющих интерес видов для поиска новых терпенов либо алкалоидов, обладающих проапоптотической активностью в отношении опухолевых клеток. В литературе основное действие экстрактов

белокопытника объясняется наличием в их составе S-петазина и *изо*-S-петазина с молекулярной массой равной для каждого 334 г/моль и (рис. 1, 2).

Представители многолетних травянистых растений рода *Petasites* не перестают привлекать интерес в качестве объекта поиска новых соединений, обладающих антипролиферативным действием. В проведенных ранее подобных исследованиях упомянутые сесквитерпены подавляли клеточную пролиферацию линий DU145, PC3, LNCaP, а также активировали каспазные каскады, увеличивали высвобождение цитохрома С из митохондрий и подавление экспрессии BCL-2 [11]. Так, S-петазин, экстрагированный из *P. japonicus* (Siebold & Zucc.), индуцировал апоптоз и ингибировал миграцию клеток меланомы B16F10 и клеток A375 за счет активации сигнального пути p53 [12]. Из метанольного экстракта надземных частей *P. japonicus* (Siebold & Zucc.) были выделены шесть новых сесквитерпеноидов эремофиланового типа, петаситестерпены I–VI, включая S-японин и эремофилинолид. Среди выделенных соединений петаситестерпены I, II, VI и S-японин проявляли цитотоксические свойства и антипролиферативную активность против опухолевых клеток астроцитомы человека U-251MG и их опухолевых стволовых клеток (CSC) [13].

Берберин, (C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> производное 5,6-дигидробензо [а, g]хинолизиния рис. 3) MW = 337 г/моль, является четвертичным изохинолиновым алкалоидом, получаемым из кустарников рода *Berberis*, в нашем случае из Барбариса обыкновенного *Berberis vulgaris* (L.), и широко используются в Китае для коррекции гиперлипидемии человека и кишечных заболеваний в клинической практике [14].

Берберин обладает разнообразными фармакологическими эффектами и обычно используется для лечения гастроэнтерита [15, 16]. Он проявляет значительное антипролиферативное действие, показанное как в условиях *in vitro* на таких линиях опухолевых клеток, как MCF-7, MDA-MB231, HT-29, A549,

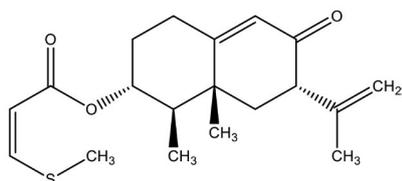


Рис. 1. Структурная формула S-петазина.

Fig. 1. The structural formula of S-petasin.

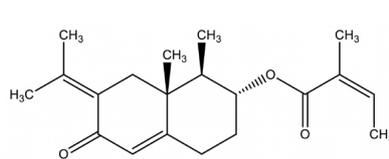


Рис. 2. Структурная формула *изо*-S-петазина.

Fig. 2. The structural formula of *изо*-S-petasin.

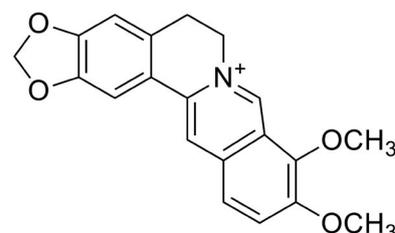


Рис. 3. Структурная формула алкалоида берберина.

Fig. 3. The structural formula of berberine.

LNCaP, так и в экспериментах *in vivo* на моделях A549 xenograft, LNCaP xenograft mice, SW-620 xenograft mice, U87 xenograft mice, вызывая остановку клеточного цикла и апоптоз, ингибируя метастазирование и ангиогенез [17]. В литературе описано, что существуют несколько механизмов антипролиферативного действия берберина. Он взаимодействует с различными молекулярными мишенями путем связывания со специфическими последовательностями дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК). Так же известны несколько механизмов антипролиферативного действия берберина, а именно подавление циклинов A, D, CDK 1, CDK4, Jak2, фактор роста эндотелия сосудов VEGF, NF-κB путь активатора белка 1 (AP-1) и индукция аутофагической гибели клеток через сигнальный путь mTOR [18, 19]. Берберин также индуцирует митохондриально-опосредованный апоптоз за счет потери мембранного потенциала митохондрий, высвобождения цитохрома C, активации каспазы и PARP, усиления регуляции проапоптотических белков семейства BCL-2 и понижающей регуляции антиапоптотических белков семейства BCL-2 [20].

**Цель исследования:** выделить и верифицировать чистые фракции вторичных метаболитов растений, содержащихся в *B. vulgaris* (L.) и *P. hybridus* (L.), а так-

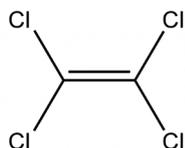


Рис. 4. Структурная формула тетрахлорэтилена.

Fig. 4. The structural formula of tetrachlorethylene.

же провести модельный эксперимент и молекулярно-генетическое исследование для оценки их цитотоксического действия в условиях *in vitro* на клеточной линии HeLa.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено совместно со специалистами Южного федерального университета кафедры ботаники академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского и кафедры природных и высокомолекулярных соединений химического факультета. Выделение вторичных метаболитов из *P. hybridus* (L.) и *B. vulgaris* (L.) производилось на химическом факультете Южного федерального университета на кафедре природных соединений. Для экстракции из Белокопытника гибридного были использованы механически очищенные, измельченные корневища, которые заливались тетрахлорэтиленом (рис. 4) – хлорорганическим растворителем устойчивым к гидролизу [21].

Первичная экстракция заняла четыре месяца. Тетрахлорэтилен (рис. 4) отделяли от растительного сырья путем декантации и сконцентрировали, отогнав растворитель в перегонной установке (рис. 5).

Сконцентрированный раствор разделяли методом колоночной хроматографии. В качестве сорбента (твердой фазы) использовался силикагель ( $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ). В качестве элюента (подвижной фазы) последовательно использовались тетрахлорэтилен, хлористый метилен и смесь хлористого метилена со спиртом в соотношении 10:1 (рис. 6).

При использовании тетрахлорэтилена нами были выделены 10 фракций, цвет которых менялся от бесцветного до светло-желтого. Далее в качестве элюента использовали хлористый метилен и получили

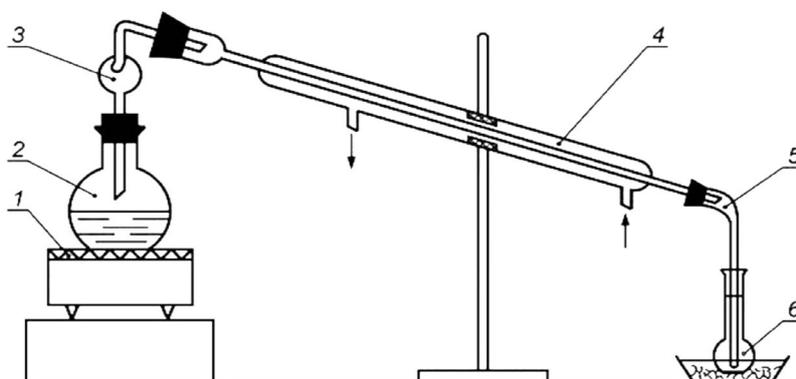


Рис. 5. Общая схема перегонной установки для концентрирования (1 – электроплитка, 2 – колба, 3 – насадка Вюрдца, 4 – прямой водяной холодильник Либиха, 5 – аллондж, 6 – колба).

Fig. 5. The general scheme of the distillation still for concentration (1 – electric stove, 2 – flask, 3 – Wurdz nozzle, 4 – Liebig consider, 5 – allonge, 6 – receiving flask).

еще 10 фракций. После этого залили колонку смесью хлористого метилена и спирта, и собрали еще 2 фракции. Все фракции сконцентрировали методом упаривания.

Для идентификации выделенных соединений, было проведено разделение исходного экстракта методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-детектированием. Полученные масс-спектры были расшифрованы и идентифицированы с помощью библиотек NIST 2011, которые содержали данные по алкалоидам и биологически активным веществам.

Из дальнейшего анализа были исключены фракции, содержащие высшие жирные кислоты (валериановую и изовалериановую), азотистые основания нуклеиновых кислот и их гликозидов. Далее проводилась идентификация оставшихся фракций методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на атомах водорода.

Идентификация методом ЯМР позволила выявить ряд следующих соединений (рис. 7).

Интересно отметить то обстоятельство, что *S*-петазин и *изо-S*-петазин из исследуемых образцов выделить не удалось ввиду крайне низкого их содержания в растительном сырье. Для выделения берберина,

которое также производилось на химическом факультете Южного федерального университета на кафедре природных соединений, использовалась навеска корней *B. vulgaris* (L.) общей массой 0,5 г. В качестве реагента для экстракции (растворителя) была применена смесь 70 % водного этанола и 70 % водной

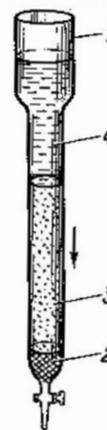
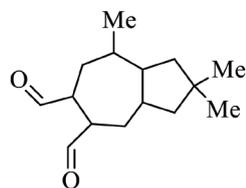


Рис. 6. Общая схема хроматографической колонки (1 – растворитель, 2 – вата, 3 – силикагель, 4 – вещество).

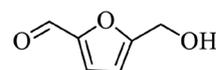
Fig. 6. The general scheme of a chromatography column (1 – solvent, 2 – cotton wool, 3 – silica gel, 4 – substance).



2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde

Chemical Formula:  $C_{15}H_{24}O_2$

Molecular Weight: 236,35



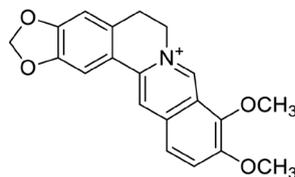
5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde

Chemical Formula:  $C_6H_6O_3$

Molecular Weight: 126,11

Рис. 7. Структурные формулы соединений, выделенных из *P. hybridus* (L.).

Fig. 7. The structural formulas of compounds isolated from *P. hybridus* (L.).



9,10-dimethoxy-5,6-dihydro-[1,3]dioxolo[4,5-g]isoquinolino[3,2-a]isoquinolin-7-ium

Chemical Formula:  $C_{20}H_{18}NO_4^+$

Molecular Weight: 336,36

Рис. 8. Структурная формула берберина, выделенного из корней *B. vulgaris* (L.).

Fig. 8. The structural formula of berberine isolated from the roots of *B. vulgaris* (L.).

уксусной кислоты в соотношении 9:1. Экстракцию проводили при комнатной температуре 4 дня. После этого полученный первичный экстракт сконцентрировали перегонкой. Сухой остаток после дистилляции растворяли в 96 % водном этаноле и проводили хроматографическое разделение на колонке, заполненной силикагелем. В качестве подвижной фазы использовали смесь хлористого метилена и этанола в соотношении 10:1. Из колонки выделили фракцию желтого цвета с подвижностью ( $R_f$ ) 0,1. Раствор сконцентрировали методом перегонки, как описано выше. Отгонку вели до тех пор, пока в колбе не осталось 5 мл спирта (рис. 5). Выделенный берберин полностью соответствует по физико-химическим данным коммерчески доступному [CAS 2086–83–1] (рис. 8).

Оценку воздействия полученных соединений проводили в условиях *in vitro* на клеточной линии HeLa CCL2. Клеточная линия была получена из Института цитологии и генетики РАН. Клетки наращивались в питательной среде Игла MEM (БиолоТ) с внесением 10 % фетальной сыворотки коров (ФСК) (HyClone, США) до количества  $1 \times 10^6$  при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub>. Экспозиция составляла 24 и 72 часа. При достижении 75–80 % уровня конфлюэнтности клеточной линии, питательная среда заменялась на аналогичную с внесением берберина и производных фурурола и азулена (в концентрациях 4 и 12 мкг/мл) в опытные образцы, в отрицательном контроле вносилась среда без добавления исследуемых веществ. Через 24 и 72 часа экспозиции клетки снимались при помощи 0,1 % раствора трипсина для определения количества живых и мертвых клеток на автоматическом счетчике NanoEnTek JuliFl (Корея) с применением окрашивания 0,4 % трипановым синим. Затем клетки снимали с культуральных флаконов раствором 0,1 % трипсина и консервировали в РНК среде (IntactRNA Евроген) [22]. Оценку процентного содержания клеток в состоянии апоптоза от общего количества клеток проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II с помощью FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I. Клетки, сохраненные в РНК среде, делились на две равные аликвоты, из которых выделялись тотальные препараты ДНК и РНК.

ДНК выделялась коммерческим набором «ДНК-сорб-В» по соответствующему протоколу. РНК выделяли Тризолом по методу Хомчинского [23]. Оценку показателей копийности и экспрессии после воздействия проводили методом Real-time PCR. RT-qPCR амплификация проводилась на термоциклере ДТпрайм (ДНК технология, Россия). Амплификацию каждого образца осуществляли в трех технических повторах. Далее усредненные данные порогового цикла по каждому генетическому локусу нормировались по

усредненному показателю порогового цикла для референсных генов ( $\Delta C_t$  = среднее  $C_t$  (исследуемого гена) – среднее геометрическое  $C_t$  (референсных генов)), и вычисляли величину  $gQ$ , равную  $2^{-\Delta C_t}$ . Далее вычисляли среднее  $gQ$  клеток под воздействием исследуемых веществ и среднее  $gQ$  интактных клеток (контроль) для каждого генетического локуса и соотношение  $RQ_{об}/RQ_{к}$ , представляющее собой показатель относительной копийности генов в экспериментальных образцах по отношению к контрольным [24]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 19.0 (StatSoft Inc., США). Полученные данные подвергали однофакторному дисперсионному анализу (критический уровень статистической значимости  $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В первый этап исследования входили выделение, очистка и верификация соединений, которые обладают потенциальным цитостатическим действием в отношении клеточной линии HeLa. Идентификация была осуществлена методами масс-спектрометрии и ядерного магнитного резонанса (ЯМР); в ходе нее был верифицирован 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, которому был присвоен порядковый номер 2, а также 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde под порядковым номером 5.3. Оба соединения выделены из корневищ *P. hybridus* (L.). Из *B. vulgaris* (L.) был выделен алкалоид берберин. Данные, полученные при оценке цитотоксического действия исследуемых веществ на счетчике клеток NanoEnTek JuliFl, представлены в таблице 1.

Как видно из представленных в таблице 1 данных, наибольший процент мертвых клеток HeLa наблюдался при воздействии берберинном (28,39 % 4 мкг/мл, 29,79 % 12 мкг/мл) при временной экспозиции 72 часа. Этот результат оценки противоопухолевого воздействия использованных нами метаболитов также подтверждается данными проточной цитофлуориметрии, представленными в таблицах 2, 3.

Наиболее выраженное цитотоксическое действие показал берберин в концентрации 4 мкг/мл при экспозиции 72 часа. Интересной особенностью данных результатов проточной цитофлуориметрии оказалось то, что концентрация берберина 12 мкг/мл показала меньшее проапоптогенное действие на клеточную линию HeLa, чем концентрация 4 мкг/мл.

При воздействии берберинном в концентрации 4 мкг/мл и временной экспозиции 24 часа наблюдались увеличения копийности локуса *CASP9* в 5,02 раза ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю, *CASP3* в 21,11 раза ( $p < 0,05$ ). При концентрации 12 мкг/мл

**Таблица 1. Количество живых и мертвых клеток линии HeLa после воздействия выделенными вторичными метаболитами после окраски трипановым синим**  
**Table 1. The number of living and dead cells of the HeLa line after exposure to isolated secondary metabolites after staining with trypan blue**

Вещество, концентрации / Substance, concentration	24 часа, живые клетки / 24 hours, live cells	24 часа, мертвые клетки / 24 hours, dead cells	72 часа, живые клетки / 72 hours, live cells	72 часа, мертвые клетки / 72 hours, dead cells
Контроль без воздействия / Control without influence	96,27 %	3,73 %	92,65 %	7,35 %
№ 2, 4 мкг/мл / № 2 4 µg/ml	88,46 %	11,54 %	88,46 %	11,54 %
№ 2, 12 мкг/мл / № 2, 12 µg/ml	87,50 %	12,50 %	95,83 %	4,17 %
№ 5.3, 4 мкг/мл / № 5.3 4 µg/ml	88,89 %	11,11 %	91,74 %	8,26 %
№ 5.3, 12 мкг/мл / № 5.3 12 µg/ml	89,29 %	10,71 %	89,29 %	10,71 %
Берберин 4 мкг/мл / Berberine 4 µg/ml	86,21 %	13,40 %	77,61 %	28,39 %
Берберин 12 мкг/мл / Berberine 12 µg/ml	75,45 %	17,72 %	70,21 %	29,79 %

**Таблица 2. Количество клеток линии HeLa в состоянии апоптоза после воздействия выделенными вторичными метаболитами (экспозиция 24 часа)**  
**Table 2. The number of HeLa cells in apoptosis after exposure to isolated secondary metabolites (24-hour exposure)**

Вещество / Substance	Концентрация, мкг/мл / Concentration, µg/ml	Живые клетки Ann V- PI- / Living cells Ann V-PI-	Ранний апоптоз Ann V+ PI- / Early apoptosis Ann V+ PI-	Поздний апоптоз/некроз Ann V+PI+ / Late apoptosis / necrosis Ann V+PI+	Мертвые клетки Ann V- PI+ / Dead cells Ann V- PI+
Контроль / Control		95,8 %	1,1 %	3,0 %	0,1 %
№ 2	4	95,4 %	1,4 %	3,1 %	0,1 %
№ 2	12	94,7 %	2,1 %	3,2 %	0 %
№ 5,3	4	93,8 %	1,7 %	4,5 %	0,1 %
№ 5,3	12	94,8 %	1,7 %	3,5 %	0,1 %
Берберин / Berberine	4	76,8 %	9,0 %	13,8 %	0,4 %
Берберин / Berberine	12	91,3 %	3,3 %	5,3 %	0,1 %

копийность *CASP9* увеличилась в 18,31 раза ( $p < 0,05$ ), а *CASP3* в 19,70 раза ( $p < 0,05$ ). Однако изменения показателей экспрессии данных генов в указанных временных точках при использовании тех же концентраций берберина были незначительны. Воздействие берберином во временной экспозиции 72 часа с концентрацией 4 мкг/мл и 12 мкг/мл не оказало выраженного эффекта на изменения показателей копийности и экспрессии в локусах *CASP8*, *CASP9*, *CASP3* (рис. 9).

Оценка влияния берберина на локус *TP53* и *MDM2* показала следующие результаты. Во временной экспозиции 24 часа с концентрацией 4 мкг/мл уровень экспрессии локуса *TP53* составил 1,02 ( $p < 0,05$ ),

а уровень экспрессии локуса *MDM2*—0,55 ( $p < 0,05$ ). Разница составила 1,85 раза в сторону увеличения уровня экспрессии *TP53* над *MDM2*. Концентрация берберина 12 мкг/мл с экспозицией 24 часа показала увеличение уровня экспрессии *TP53* в 1,78 ( $p < 0,05$ ) раза и снижение *MDM2* до уровня, равного 0,18 раза ( $p < 0,05$ ). Разница значений экспрессии между локусами *TP53* и *MDM2* в данной экспозиции составила 9,89 раза в сторону увеличения *TP53* (рис. 10). При этом изменения показателей копийности локусов *TP53* и *MDM2* в данном случае не наблюдалось. В экспозиции 72 часа с берберином для локусов *TP53* и *MDM2* были обнаружены следующие изменения уровня экспрессии. При концентрации берберина

**Таблица 3. Количество клеток линии HeLa в состоянии апоптоза после воздействия выделенными вторичными метаболитами (экспозиция 72 часа)**  
**Table 3. The number of HeLa cells in apoptosis after exposure to isolated secondary metabolites (72-hour exposure)**

Вещество / Berberine	Концентрация, мкг/мл / Concentration, µg/ml	Живые клетки Ann V- PI- / Living cells Ann V-PI-	Ранний апоптоз Ann V+ PI- / Early apoptosis Ann V+ PI-	Поздний апоптоз / некроз Ann V+PI+ / Late apoptosis/necrosis Ann V+PI+	Мертвые клетки Ann V- PI+ / Dead cells Ann V- PI+
Контроль / Control		87,0 %	7,2 %	5,8 %	0 %
№ 2	4	79,6 %	13,1 %	7,3 %	0 %
№ 2	12	85,1 %	5,3 %	9,6 %	0 %
№ 5,3	4	96,6 %	1,3 %	2,1 %	0 %
№ 5,3	12	91,9 %	4,7 %	3,3 %	0,1 %
Берберин / Berberine	4	32,8 %	29,3 %	37,2 %	0,7 %
Берберин / Berberine	12	65,9 %	4,5 %	28,5 %	1,1 %

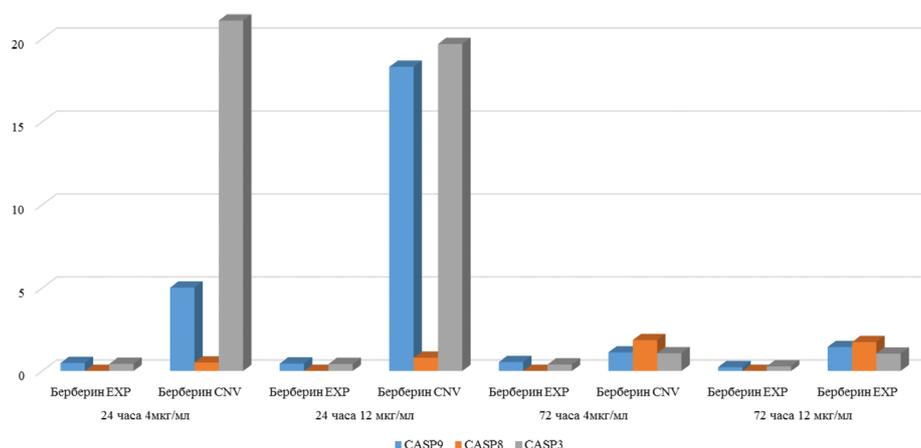


Рис. 9. Уровень копийности и экспрессии каспаз под воздействием берберина в обеих использованных концентрациях при экспозиции 24 и 72 часа.

Fig. 9. The copy number and expression levels of caspases under the influence of berberine at both used concentrations during exposure for 24 and 72 hours.

4 мкг/мл было выявлено увеличение уровня экспрессии *TP53* в 1,1 раза ( $p < 0,05$ ), а также снижение уровня экспрессии *MDM2* до значения 0,22 ( $p < 0,05$ ). Разница между уровнем экспрессии *TP53* и *MDM2* составила 4,86 раза в сторону увеличения *TP53* над *MDM2*. Уровень экспрессии *TP53* с использованием берберина в концентрации 12 мкг/мл и экспозицией 72 часа увеличился в 3,10 раза ( $p < 0,05$ ); в тоже время уровень экспрессии *MDM2* составил 0,09 ( $p < 0,05$ ). Таким образом, разница между уровнями экспрессии локусов *TP53* и *MDM2* в данной точке достигла 34,4 в сторону увеличения уровня экспрессии *TP53*. (рис. 10).

Для локусов *BAX* и *BCL2* под воздействием берберина на клетки линии HeLa были отмечены следующие изменения. При экспозиции 24 часа и концентрации 4 мкг/мл копийность *BCL2* увеличивалась относительно контроля без воздействия в 50,37 раза ( $p < 0,05$ ), а копийность *BAX* – в 1,1 ( $p < 0,05$ ); таким образом, разница между *BCL2* и *BAX* в данной точке была 45,78 раза в сторону *BCL2* (рис. 10). При использовании концентрации берберина 12 мкг/мл копийность *BCL2* составила 83,73 раза ( $p < 0,05$ ), а копийность *BAX* – 0,72 раза ( $p < 0,05$ ), таким образом, разница показателей копийности между *BCL2* и *BAX* составила 116,29 раза (рис. 11).

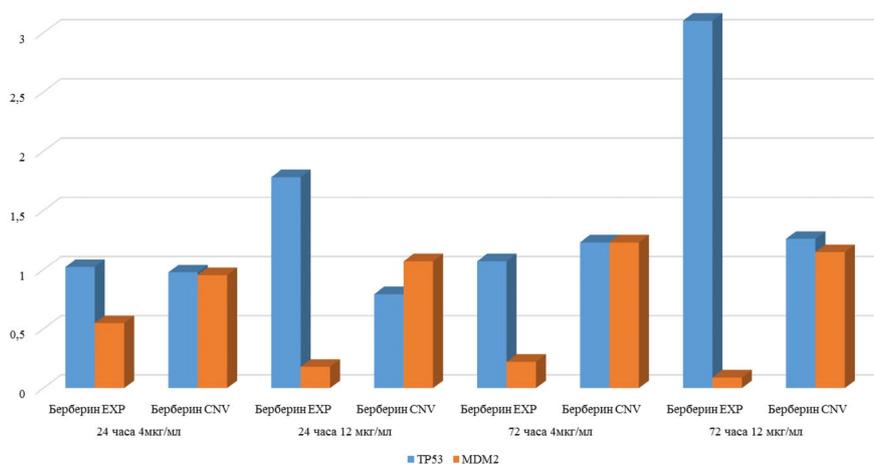


Рис. 10. Уровень копийности и экспрессии локусов *TP53* и *MDM2* под воздействием берберина в обеих использованных концентрациях при экспозиции 24 и 72 часа.

Fig. 10. The copy number and expression levels of the *TP53* and *MDM2* loci under the influence of berberine at both used concentrations during exposure for 24 and 72 hours.

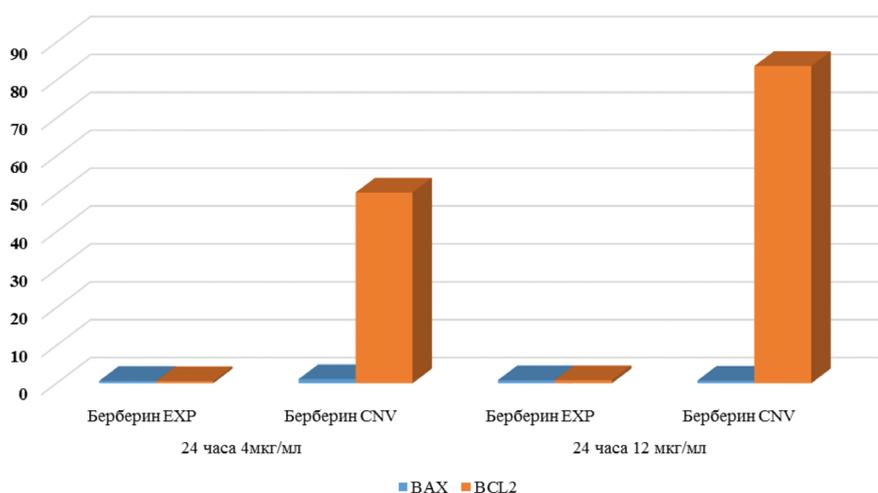


Рис. 11. Уровень копийности и экспрессии генов *BAX* и *BCL2* под воздействием берберина в первые 24 часа.

Fig. 11. The copy number and expression level of *BAX* and *BCL2* genes under the influence of berberine during the first 24 hours.

При использовании концентрации берберина 4 мкг/мл и экспозиции 72 часа уровень копийности *BAX* был 1,1 ( $p < 0,05$ ), уровень копийности *BCL2* составил 0,93 ( $p < 0,05$ ). Разница между уровнем копийности *BAX* и *BCL2* составила 1,18 раза в сторону увеличения *BAX*. При применении концентрации берберина 12 мкг/мл и экспозиции 72 часа уровень копийности *BAX* составил 1,29 ( $p < 0,05$ ), а *BCL2*—0,81 ( $p < 0,05$ ). Разница между показателями копийности *BAX* и *BCL2* составила 1,59 раза с преобладанием *BAX* (рис. 12). Уровень экспрессии локусов *BAX* и *BCL2* под действием концентрации берберина 4 мкг/мл и 12 мкг/мл при обеих использованных экспозициях не претерпевал существенных изменений.

Воздействие производных фурана и азулена, выделенными из *P. hybridus* (L.), вызвало следующие изменения копийности и экспрессии исследуемых генов. Так 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one (соединение под № 2) во временной экспозиции 24 часа и концентрации 4 мкг/мл увеличивал копийность *CASP9* в 4,91 раза ( $p < 0,05$ ), а копийность *CASP3* при такой же экспозиции и концентрации увеличивалась в 21,1 раза ( $p < 0,05$ ). 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde (соединение под № 5.3) при действии в течение 24 часов в концентрации 4 мкг/мл вызвал увеличение копийности *CASP9* в 5,14 раза ( $p < 0,05$ ), а копийность *CASP3* увеличивалась в 25,39 раза относительно контроля ( $p < 0,05$ ) (рис. 13).

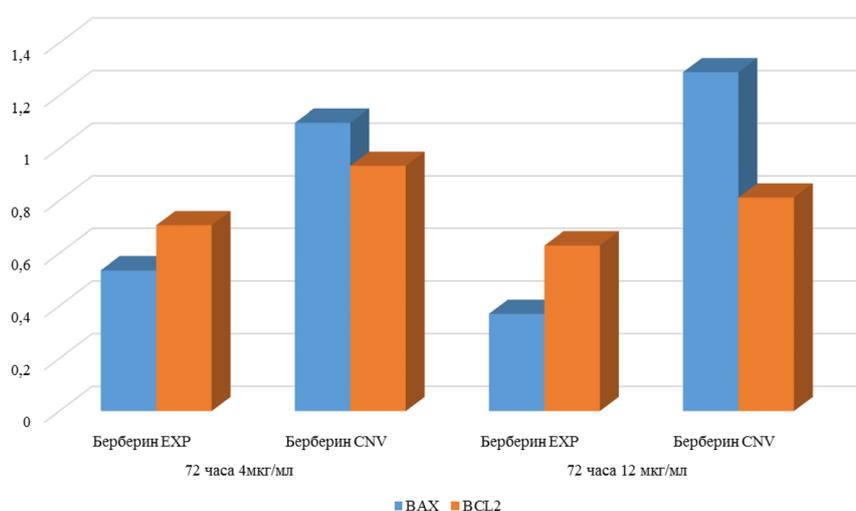


Рис. 12. Уровень копийности и экспрессии генов *BAX* и *BCL2* под воздействием берберина в экспозиции 72 часа.

Fig. 12. The copy number and expression level of *BAX* and *BCL2* genes under the influence of berberine after a 72-hour exposure.

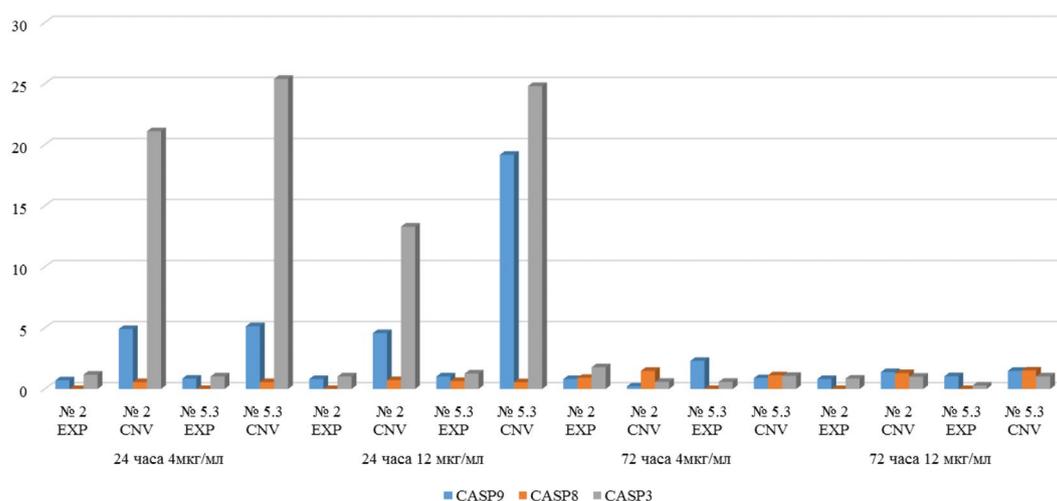


Рис. 13. Уровень копийности и экспрессии генов *CASP9*, *CASP8* и *CASP3* в обеих использованных концентрациях при экспозиции 24 и 72 часа под воздействием 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde.

Fig. 13. The copy number and expression level of *CASP9*, *CASP8*, and *CASP3* genes at both used concentrations after 24 and 72 hours of exposure under the influence of 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde.

Соединение 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one при экспозиции 24 часа и концентрации 12 мкг/мл вызывало увеличение копийности *CASP9* в 4,58 раза ( $p < 0,05$ ), а *CASP3* в 13,30 раза ( $p < 0,05$ ). 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde при концентрации 12 мкг/мл во временной экспозиции 24 часа увеличивал уровень копийности *CASP9* в 19,18 раза ( $p < 0,05$ ), а уровень *CASP3* – в 24,81 раза ( $p < 0,05$ ). Уровень экспрессии локусов *CASP9*, *CASP8*, *CASP3* с временной экспозицией 24 часа и воздействии 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde в обеих концентрациях, использованных в эксперименте, не менялся статистически значимо (рис. 13).

Использованные нами производные фурана и терпеноиды, полученные из *P. hybridus* (L.), оказали следующее влияние на изменения уровня копийности и экспрессии генов *TP53* и *MDM2*. Наиболее ярко выраженные изменения наблюдались при временной экспозиции 72 часа (рис. 14). Так 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one в концентрации 4 мкг/мл увеличил экспрессию *TP53* относительно контроля без воздействия в 2,19 раза ( $p < 0,05$ ), на этом фоне снижался уровень экспрессии *MDM2* в 1,35 раза ( $p < 0,05$ ). Разница между экспрессией *TP53* и *MDM2* при данном воздействии составила 1,62 раза в сторону увеличения *TP53* над *MDM2*. 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde с той же временной экспозицией 72 часа, но при концентрации 12 мкг/мл увеличивал экспрессию *TP53* в 2,58 раза относительно контроля, при этом уровень экспрессии *MDM2* снижался до уровня, равного 0,35 ( $p < 0,05$ ). Разница между экспрессией *TP53* и *MDM2* в данном случае составила 7,37 раз.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании установлено, что все выделенные и верифицированные вторичные метаболиты растений оказывают цитотоксическое действие на клеточную линию HeLa, в большей или меньшей степени. Исходя из описанных выше результатов эксперимента, следует обратить внимание на то, что профиль относительного изменения экспрессии локусов *TP53/MDM2* после воздействия берберинном на клетки HeLa, совпадает как при экспозиции 24 часа, так и 72 часа в обеих использованных концентрациях. В каждой временной экспозиции отмечается наличие дозозависимого эффекта, так как уровень экспрессии *TP53* увеличивается с ростом применяемой концентрации берберина, хотя при этом с наблюдается снижение уровня экспрессии *MDM2*.

Как известно из проведенных ранее многочисленных исследований, белок p53 выполняет функцию супрессора злокачественных опухолей, а также может принимать участие в запуске апоптоза [25]. В то же время убиквитинлигаза E3 *MDM2* является негативным регулятором белка-супрессора опухоли p53. *MDM2* связывает и убиквитинирует *TP53*, способствуя его деградации. *TP53* является одним из ключевых генов-супрессоров опухолей и очень важен в процессе апоптоза в различных опухолевых клетках. Белок, кодируемый этим геном, является фактором транскрипции и контролирует инициацию клеточного цикла. Следовательно, *TP53* играет решающую роль в том, начинается ли деление клетки. Если клетка повреждена и не подлежит восстановлению, белок p53 будет участвовать в процессе инициации апоптоза. Например, белок p53 может ингибировать

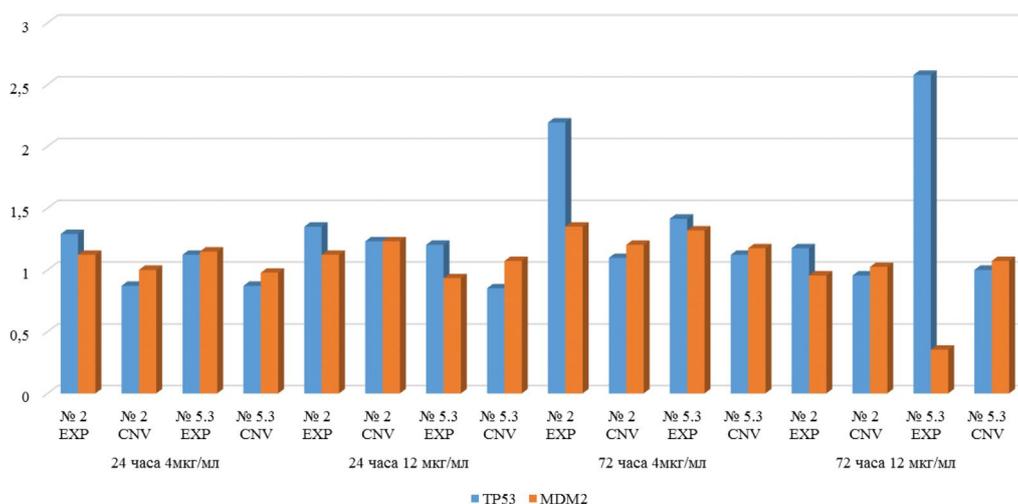


Рис. 14. Уровень экспрессии *TP53* и *MDM2* при экспозиции 72 часа.

Fig. 14. The expression levels of *TP53* and *MDM2* after a 72-hour exposure.

*BCL2* с помощью *BAX*, что увеличивает соотношение *BAX/BCL2*, а также может индуцировать клеточный апоптоз с помощью *APAF-1*, который лежит в основе сигнала для *CASP3*. Белок p53 играет ключевую роль в противоопухолевом действии берберина. Недавнее исследование показало, что берберин может усиливать экспрессию белка p53, подавляя ингибитор *MDM2* на посттранскрипционном уровне. Такое действие берберина в случае с использованной клеточной линией обусловлено тем, что HeLa изначально является носителем вируса папилломы человека, вирусный онкопротеин E6 отвечает за инактивацию опухолевого супрессора p53 и, таким образом, играет решающую роль в онкогенезе, индуцированном ВПЧ. Вирусный белок E6 образует тримерный комплекс с эндогенной убиквитинлигазой E3 E6AP и ДНК-связывающим доменом. Однако развитие и прогрессирование опухолей шейки матки обусловлено экспрессией двух онкогенов, E6 и E7. ВПЧ E6 и E7 взаимодействуют с белками-супрессорами опухолей p53 и Rb соответственно. E6 связывает и индуцирует убиквитин-опосредованную деградацию p53, в то время как E7 инактивирует белок Rb и изменяет дополнительные клеточные сигнальные пути, важные для трансформации.

Берберин, в свою очередь, может эффективно нацеливаться как на AP1, так и на вирусные онкопротеины E6 и E7. Ингибирование AP1 и блокирование экспрессии вирусных онкобелков E6 и E7 является одним из механизмов анти-ВПЧ действия берберина [26]. Кроме того, берберин также может усиливать экспрессию предшественника и зрелых форм miR-23a, которая может вызвать остановку клеточного цикла в стадии G2/M, индуцированную берберинном. [27]. В нашем случае с использованием клеточной линии HeLa в качестве модельного объекта при оценке уровня цитотоксического действия исследуемых соединений Белокопытника гибридного, отмечался рост уровня экспрессии локуса *TP53* и снижение уровня экспрессии локуса *MDM2* при экспозиции 72 часа. В то же время наблюдаемые нами изменения уровня копийности генов *BAX* и *BCL2* в случае воздействия берберинном на клетки HeLa при временных экспозициях 24 и 72 часа, указывают на наличие проапоптотического ответа на данное воздействие. Так, при экспозиции 24 часа наблюдается явное превосходство уровня копийности локуса *BCL2* над *BAX*, причем дозозависимо, с увеличением концентрации берберина увеличивается копийность *BCL2*. Однако, при экспозиции 72 часа уровень копийности *BCL2* с концентрацией 4 мкг/мл снижается в 53 раза, а при концентрации 12 мкг/мл в 103 раза. Наблюдаемый в данном случае эффект берберина также подтверждается недавними исследования-

ми, в которых показано, что он индуцирует апоптоз в опухолевых клетках, за счет повышения регуляция проапоптотических генов *BAD*, *BAX*, *BID* и понижения регуляции генов, ингибирующих апоптоз *BCL2*, *BCL2L2*, *BCL2L1*. Также он ингибирует пролиферацию клеток линии рака шейки матки человека Ca Ski за счет изменения соотношения белков p53 и *BAX/Bcl-2*, активации АФК и усиления активности экспрессии каспазы-3 [28].

Увеличение уровня копийности генов *CASP9* и *CASP3* наблюдается как при воздействии берберинном, так и с использованными нами в эксперименте производными фурана и азулена, экстрагированными из корней *P. hybridus (L.)*. Как известно, *CASP9* является одной из инициаторных каспаз: цитохром С, освобождаясь из мембран митохондрий, активирует *CASP9*, и посредством ее весь остальной каспазный каскад. Выход цитохрома С в цитозоль обуславливается состоянием мембранных каналов митохондрий которые, в свою очередь, контролируются белками семейства *BAX* и *BCL2*. Белки семейства *BCL2*, *BCLX* входят в состав митохондриальных мембран и закрывают каналы, тогда как белки семейства *BAX* выполняют обратную функцию, открывая их. При этом сами белки *BAX* находятся в цитоплазме, а при апоптотических сигналах перемещаются к митохондриальным мембранам, где образуют комплексы *BCL-2/BAX*, в результате чего происходит деблокирование каналов [29].

Однако, в наших экспериментах увеличение копийности регистрируется только при экспозиции 24 часа, в то время как рост уровня экспрессии гена *TP53* и снижение экспрессии *MDM2*, наблюдаемые нами в случае с использованием 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one и 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde, отмечается при временной экспозиции 72 часа. Полученные данные подтверждают известный факт о том, что ген *TP53* является геном-супрессором опухолей и транскрипционным фактором, регулирующим клеточный цикл [30]. В целом это предполагает, что использованные в эксперименте вторичные метаболиты *P. hybridus (L.)* в первые 24 часа запускают активацию *CASP9* и *CASP3*, а по достижении времени экспозиции 72 часа, когда накапливаются повреждения ДНК, влияют на уровень экспрессии *TP53*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о том, что алкалоид берберин, производные фурфурола и азулена способны оказывать воздействие на опухолевые клетки на уровне ДНК (показатель копийности) и матричной РНК (уровень экспрессии), что

отражается в изменении копийности и экспрессии локусов *CASP8*, *CASP9*, *CASP3*, *BAX*, *BCL2*, *TP53* и *MDM2*. Молекулярные изменения под воздействием этих соединений находят отражение в данных об инициации апоптоза в опухолевых клетках, полученных при помощи метода проточной цитофлуориметрии. По данным теста трипановым синим и проточной цитофлуориметрии, берберин (из всех использованных в эксперименте соединений) обладал наиболее выраженным цитотоксическим действием на клеточную

линию HeLa. В свою очередь, по данным ПЦР в режиме реального времени, производные фурфурола и азулена, выделенные из *P. hybridus* (L.), также, как и берберин, показали наличие эффекта инициации апоптоза. Важно отметить, что использованные в эксперименте соединения *P. hybridus* (L.) ранее активно не исследовались в этом аспекте, что в свою очередь дает основу для проведения дальнейших экспериментов с использованием этих соединений на линиях опухолевых клеток различных нозологий.

#### Список источников

1. Rosato I, Dalla Zuanna T, Tricarico V, Barbiellini Amidei C, Canova C. Adherence to cervical cancer screening programs in migrant populations: A systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(3):2200. <https://doi.org/10.3390/ijerph20032200>
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
3. Gado F, Ferrario G, Della Vedova L, Zoanni B, Altomare A, Carini M, et al. Targeting Nrf2 and NF-κB signaling pathways in cancer prevention: The role of apple phytochemicals. *Molecules*. 2023;28(3):1356. <https://doi.org/10.3390/molecules28031356>
4. Alves-Silva JM, Romane A, Efferth T, Salgueiro L. North African Medicinal Plants Traditionally Used in Cancer Therapy. *Front Pharmacol*. 2017 Jun 26;8:383. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00383>
5. Yan Z, Lai Z, Lin J. Anticancer properties of traditional Chinese medicine. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2017;20(5):423–429. <https://doi.org/10.2174/1386207320666170116141818>
6. Habli Z, Toumeh G, Fatfat M, Rahal ON, Gali-Muhtasib H. Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: Overview of molecular mechanisms. *Molecules*. 2017;22(2):250. <https://doi.org/10.3390/molecules22020250>
7. Hsiao YT, Kuo CL, Chueh FS, Liu KC, Bau DT, Chung JG. Curcuminoids induce reactive oxygen species and autophagy to enhance apoptosis in human oral cancer cells. *Am J Chin Med*. 2018;46(5):1145–1168. <https://doi.org/10.1142/s0192415x1850060x>
8. Bernardini S, Tiezzi A, Laghezza Masci V, Ovidi E. Natural products for human health: A historical overview of the drug discovery approaches. *Nat Prod Res*. 2018;32(16):1926–1950. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1356838>
9. Kulinowski Ł, Luca SV, Minceva M, Skalicka-Woźniak K. A review on the ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of butterbur species (*Petasites* L.). *J Ethnopharmacol*. 2022;293:115263. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115263>
10. Guo L, Li K, Cui ZW, Kang JS, Son BG, Choi YW. S-Petasin isolated from *Petasites japonicus* exerts anti-adipogenic activity in the 3T3-L1 cell line by inhibiting PPAR-γ pathway signaling. *Food Funct*. 2019;10(7):4396–4406. <https://doi.org/10.1039/c9fo00549h>
11. Wang ZH, Hsu HW, Chou JC, Yu CH, Bau DT, Wang GJ, et al. Cytotoxic effect of s-petasin and iso-s-petasin on the proliferation of human prostate cancer cells. *Anticancer Res*. 2015;35(1):191–199.
12. Guo L, Kang JS, Kang NJ, Choi YW. S-petasin induces apoptosis and inhibits cell migration through activation of p53 pathway signaling in melanoma B16F10 cells and A375 cells. *Arch Biochem Biophys*. 2020;692:108519. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108519>
13. Matsumoto T, Imahori D, Saito Y, Zhang W, Ohta T, Yoshida T, et al. Cytotoxic activities of sesquiterpenoids from the aerial parts of *Petasites japonicus* against cancer stem cells. *J Nat Med*. 2020;74(4):689–701. <https://doi.org/10.1007/s11418-020-01420-x>
14. Lu B, Hu M, Liu K, Peng J. Cytotoxicity of berberine on human cervical carcinoma HeLa cells through mitochondria, death receptor and MAPK pathways, and in-silico drug-target prediction. *Toxicol In Vitro*. 2010;24(6):1482–1490. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.07.017>
15. Zhu X, Yue H, Guo X, Yang J, Liu J, Liu J, Wang R, Zhu W. The Preconditioning of Berberine Suppresses Hydrogen Peroxide-Induced Premature Senescence via Regulation of Sirtuin 1. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:2391820. <https://doi.org/10.1155/2017/2391820>
16. Chuang TY, Wu HL, Min J, Diamond M, Azziz R, Chen YH. Berberine regulates the protein expression of multiple tumorigenesis-related genes in hepatocellular carcinoma cell lines. *Cancer Cell Int*. 2017 May 30;17:59. <https://doi.org/10.1186/s12935-017-0429-3>
17. Luo H, Vong CT, Chen H, Gao Y, Lyu P, Qiu L, et al. Naturally occurring anti-cancer compounds: shining from Chinese herbal medicine. *Chin Med*. 2019;14:48. <https://doi.org/10.1186/s13020-019-0270-9>
18. Li J, Liu F, Jiang S, Liu J, Chen X, Zhang S, Zhao H. Berberine hydrochloride inhibits cell proliferation and promotes apoptosis of non-small cell lung cancer via the suppression of the MMP2 and Bcl-2/Bax signaling pathways. *Oncol Lett*. 2018 May;15(5):7409–7414. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8249>
19. Zhong XD, Chen LJ, Xu XY, Liu YJ, Tao F, Zhu MH, et al. Berberine as a potential agent for breast cancer therapy. *Front Oncol*. 2022;12:993775. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.993775>

20. Yao Z, Wan Y, Li B, Zhai C, Yao F, Kang Y, Liu Q, Lin D. Berberine induces mitochondrial mediated apoptosis and protective autophagy in human malignant pleural mesothelioma NCI H2452 cells. *Oncol Rep.* 2018 Dec;40(6):3603–3610. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6757>
21. Rossberg M, Lendle W, Pfliederer G, Togel A, Dreher EL, Langer E, et al. Chlorinated Hydrocarbons. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Weinheim: Wiley-VCH; 2006. [https://doi.org/10.1002/14356007.a06\\_233](https://doi.org/10.1002/14356007.a06_233)
22. Кит О. И., Филиппова С. Ю., Тимофеева С. В., Ситковская А. О., Златник Е. Ю., Колпаков С. А., и др. Влияние онколитических штаммов новой неклассифицированной группы ротавирусов человека на лимфоциты периферической крови. *Южно-Российский онкологический журнал.* 2021;2(3):23–30. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-3>
23. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 1987;162(1):156–159. <https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>
24. Кутилин Д. С., Зинькович М. С., Гусарева М. А., Фаенсон А. В., Карнаухова Е. А., Розенко Л. Я., и др. Копийность генов как фактор устойчивости опухолевых клеток предстательной железы к облучению. *Современные проблемы науки и образования.* 2020;4:82. <https://doi.org/10.17513/spno.29866>
25. Suzuki N, Johmura Y, Wang TW, Migita T, Wu W, Noguchi R, et al. TP53/p53-FBXO22-TFEB controls basal autophagy to govern hormesis. *Autophagy.* 2021;17(11):3776–3793. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1897961>
26. Warowicka A, Nawrot R, Goździcka-Józefiak A. Antiviral activity of berberine. *Arch Virol.* 2020;165(9):1935–1945. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04706-3>
27. Zhang C, Sheng J, Li G, Zhao L, Wang Y, Yang W, et al. Effects of berberine and its derivatives on cancer: A systems pharmacology review. *Front Pharmacol.* 2020;10:1461. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01461>
28. Liu D, Meng X, Wu D, Qiu Z, Luo H. A natural isoquinoline alkaloid with antitumor activity: Studies of the biological activities of berberine. *Front Pharmacol.* 2019;10:9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00009>
29. Suyatmi S, Mudigdo A, Purwanto B, Indarto D, Hakim FA, Krisnawati DI. Brazilin isolated from caesalpina sappan wood induces intrinsic apoptosis on A549 cancer cell line by increasing p53, caspase-9, and caspase-3. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2022;23(4):1337–1343. <https://doi.org/10.31557/apjcp.2022.23.4.1337>
30. Levine AJ. p53: 800 million years of evolution and 40 years of discovery. *Nat Rev Cancer.* 2020;20(8):471–480. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0262-1>

## References

1. Rosato I, Dalla Zuanna T, Tricarico V, Barbiellini Amidei C, Canova C. Adherence to cervical cancer screening programs in migrant populations: A systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2023;20(3):2200. <https://doi.org/10.3390/ijerph20032200>
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
3. Gado F, Ferrario G, Della Vedova L, Zoanni B, Altomare A, Carini M, et al. Targeting Nrf2 and NF-κB signaling pathways in cancer prevention: The role of apple phytochemicals. *Molecules.* 2023;28(3):1356. <https://doi.org/10.3390/molecules28031356>
4. Alves-Silva JM, Romane A, Efferth T, Salgueiro L. North African Medicinal Plants Traditionally Used in Cancer Therapy. *Front Pharmacol.* 2017 Jun 26;8:383. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00383>
5. Yan Z, Lai Z, Lin J. Anticancer properties of traditional Chinese medicine. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2017;20(5):423–429. <https://doi.org/10.2174/1386207320666170116141818>
6. Habli Z, Toumeh G, Fatfat M, Rahal ON, Gali-Muhtasib H. Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: Overview of molecular mechanisms. *Molecules.* 2017;22(2):250. <https://doi.org/10.3390/molecules22020250>
7. Hsiao YT, Kuo CL, Chueh FS, Liu KC, Bau DT, Chung JG. Curcuminoids induce reactive oxygen species and autophagy to enhance apoptosis in human oral cancer cells. *Am J Chin Med.* 2018;46(5):1145–1168. <https://doi.org/10.1142/s0192415x1850060x>
8. Bernardini S, Tiezzi A, Laghezza Masci V, Ovidi E. Natural products for human health: A historical overview of the drug discovery approaches. *Nat Prod Res.* 2018;32(16):1926–1950. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1356838>
9. Kulinowski Ł, Luca SV, Minceva M, Skalicka-Woźniak K. A review on the ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of butterbur species (*Petasites L.*). *J Ethnopharmacol.* 2022;293:115263. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115263>
10. Guo L, Li K, Cui ZW, Kang JS, Son BG, Choi YW. S-Petasin isolated from *Petasites japonicus* exerts anti-adipogenic activity in the 3T3-L1 cell line by inhibiting PPAR-γ pathway signaling. *Food Funct.* 2019;10(7):4396–4406. <https://doi.org/10.1039/c9fo00549h>
11. Wang ZH, Hsu HW, Chou JC, Yu CH, Bau DT, Wang GJ, et al. Cytotoxic effect of s-petasin and iso-s-petasin on the proliferation of human prostate cancer cells. *Anticancer Res.* 2015;35(1):191–199.
12. Guo L, Kang JS, Kang NJ, Choi YW. S-petasin induces apoptosis and inhibits cell migration through activation of p53 pathway signaling in melanoma B16F10 cells and A375 cells. *Arch Biochem Biophys.* 2020;692:108519. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108519>

13. Matsumoto T, Imahori D, Saito Y, Zhang W, Ohta T, Yoshida T, et al. Cytotoxic activities of sesquiterpenoids from the aerial parts of *Petasites japonicus* against cancer stem cells. *J Nat Med.* 2020;74(4):689–701. <https://doi.org/10.1007/s11418-020-01420-x>
14. Lu B, Hu M, Liu K, Peng J. Cytotoxicity of berberine on human cervical carcinoma HeLa cells through mitochondria, death receptor and MAPK pathways, and in-silico drug-target prediction. *Toxicol In Vitro.* 2010;24(6):1482–1490. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.07.017>
15. Zhu X, Yue H, Guo X, Yang J, Liu J, Liu J, Wang R, Zhu W. The Preconditioning of Berberine Suppresses Hydrogen Peroxide-Induced Premature Senescence via Regulation of Sirtuin 1. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:2391820. <https://doi.org/10.1155/2017/2391820>
16. Chuang TY, Wu HL, Min J, Diamond M, Azziz R, Chen YH. Berberine regulates the protein expression of multiple tumorigenesis-related genes in hepatocellular carcinoma cell lines. *Cancer Cell Int.* 2017 May 30;17:59. <https://doi.org/10.1186/s12935-017-0429-3>
17. Luo H, Vong CT, Chen H, Gao Y, Lyu P, Qiu L, et al. Naturally occurring anti-cancer compounds: shining from Chinese herbal medicine. *Chin Med.* 2019;14:48. <https://doi.org/10.1186/s13020-019-0270-9>
18. Li J, Liu F, Jiang S, Liu J, Chen X, Zhang S, Zhao H. Berberine hydrochloride inhibits cell proliferation and promotes apoptosis of non-small cell lung cancer via the suppression of the MMP2 and Bcl-2/Bax signaling pathways. *Oncol Lett.* 2018 May;15(5):7409–7414. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8249>
19. Zhong XD, Chen LJ, Xu XY, Liu YJ, Tao F, Zhu MH, et al. Berberine as a potential agent for breast cancer therapy. *Front Oncol.* 2022;12:993775. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.993775>
20. Yao Z, Wan Y, Li B, Zhai C, Yao F, Kang Y, Liu Q, Lin D. Berberine induces mitochondrial mediated apoptosis and protective autophagy in human malignant pleural mesothelioma NCI H2452 cells. *Oncol Rep.* 2018 Dec;40(6):3603–3610. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6757>
21. Rossberg M, Lendle W, Pfeleiderer G, Togel A, Dreher EL, Langer E, et al. Chlorinated Hydrocarbons. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Weinheim: Wiley-VCH; 2006. [https://doi.org/10.1002/14356007.a06\\_233](https://doi.org/10.1002/14356007.a06_233)
22. Kit OI, Filippova SYu, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, Zlatnik EYu, Kolpakov SA, et al. Influence of oncolytic strains of a new unclassified group of human rotaviruses on peripheral blood lymphocytes. *South Russian Journal of Cancer.* 2021;2(3):23–30. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-3>
23. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 1987;162(1):156–159. <https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>
24. Kutilin DS, Zinkovich MS, Gusareva MA, Faenson AV, Karnaukhova EA, Rozenko LY, et al. Gene copy number variation as a factor of radiation resistance of prostate tumor cells. *Modern Problems of Science and Education.* 2020;4:82. (In Russ.). <https://doi.org/10.17513/spno.29866>
25. Suzuki N, Johmura Y, Wang TW, Migita T, Wu W, Noguchi R, et al. TP53/p53-FBXO22-TFEB controls basal autophagy to govern hormesis. *Autophagy.* 2021;17(11):3776–3793. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1897961>
26. Warowicka A, Nawrot R, Goździcka-Józefiak A. Antiviral activity of berberine. *Arch Virol.* 2020;165(9):1935–1945. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04706-3>
27. Zhang C, Sheng J, Li G, Zhao L, Wang Y, Yang W, et al. Effects of berberine and its derivatives on cancer: A systems pharmacology review. *Front Pharmacol.* 2020;10:1461. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01461>
28. Liu D, Meng X, Wu D, Qiu Z, Luo H. A natural isoquinoline alkaloid with antitumor activity: Studies of the biological activities of berberine. *Front Pharmacol.* 2019;10:9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00009>
29. Suyatmi S, Mudigdo A, Purwanto B, Indarto D, Hakim FA, Krisnawati DI. Brazilin isolated from caesalpinia sappan wood induces intrinsic apoptosis on A549 cancer cell line by increasing p53, caspase-9, and caspase-3. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2022;23(4):1337–1343. <https://doi.org/10.31557/apjcp.2022.23.4.1337>
30. Levine AJ. p53: 800 million years of evolution and 40 years of discovery. *Nat Rev Cancer.* 2020;20(8):471–480. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0262-1>

#### Информация об авторах:

Златник Елена Юрьевна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, Scopus Author ID: 6603160432

Енин Ярослав Сергеевич ✉ – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4572-1579>, SPIN: 7683-2286, AuthorID: 840050, Scopus Author ID: 57196464479

Буров Олег Николаевич – к.х.н., доцент кафедры природных и высокомолекулярных соединений химического факультета ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7704-033X>, SPIN: 5269-7656, AuthorID: 642948, Scopus Author ID: 23033004000, ResearcherID: A-8428-2014

Бондаренко Елена Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8522-1026>, SPIN: 3117-4040, Author ID: 865798, Scopus Author ID: 57200132337

Сагакянц Александр Борисович – к.б.н., заведующий лабораторией иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>, SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904, Scopus Author ID: 24329773900, ResearcherID: U-5422-2017

Кутилин Денис Сергеевич – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>, SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680, Scopus Author ID: 55328886800

Дзигунова Юлия Викторовна – старший преподаватель кафедры ботаники Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
SPIN: 2204-2967, AuthorID: 1062681

Ишонина Оксана Георгиевна – к.б.н., заведующая отделом подготовки и переподготовки специалистов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5300-1213>, SPIN: 4051-5165, AuthorID: 612417, Scopus Author ID: 37115461900

Шалашная Елена Владимировна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7742-4918>, SPIN: 2752-0907, AuthorID: 476968, Scopus Author ID: 55144159900, ResearcherID: AAE-4085-2022

Ушакова Наталья Дмитриевна – д.м.н., профессор, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии реанимации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0068-0881>, SPIN: 9715-2250, AuthorID: 571594, Scopus Author ID: 8210961900

#### Information about authors:

Elena Yu. Zlatnik – Dr. Sci. (Medicine), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, Scopus Author ID: 6603160432

Yaroslav S. Enin ✉ – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4572-1579>, SPIN: 7683-2286, AuthorID: 840050, Scopus Author ID: 57196464479

Oleg N. Burov – Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor, Department of Natural and High Molecular Compounds, Faculty of Chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7704-033X>, SPIN: 5269-7656, AuthorID: 642948, Scopus Author ID: 23033004000, ResearcherID: A-8428-2014

Elena S. Bondarenko – Junior Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8522-1026>, SPIN: 3117-4040, Author ID: 865798, Scopus Author ID: 57200132337

Alexander B. Sagakyants – Cand. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>, SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904, Scopus Author ID: 24329773900, ResearcherID: U-5422-2017

Denis S. Kutilin – Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>, SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680, Scopus Author ID: 55328886800

Yulia V. Dzigunova – Senior Lecturer in the Department of Botany at the Academy of Biology and Biotechnology named after D. I. Ivanovsky, Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Olga G. Ishonina – Cand. Sci. (Biology), Head of the Department of Training and Retraining of Specialists, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5300-1213>, SPIN: 4051-5165, AuthorID: 612417, Scopus Author ID: 37115461900

Elena V. Shalashnaya – Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory for the Study of the Pathogenesis of Malignant Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7742-4918>, SPIN: 2752-0907, AuthorID: 476968, Scopus Author ID: 55144159900, ResearcherID: AAE-4085-2022

Nataliya D. Ushakova – Dr. Sci. (Medicine), Professor, anesthesiologist-resuscitator, Department of Anesthesiology and Intensive Care, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0068-0881>, SPIN: 9715-2250, AuthorID: 571594, Scopus Author ID: 8210961900

---

#### Вклад авторов:

Златник Е. Ю. – редактирование рукописи;  
Енин Я. С. – концепция и дизайн исследования, проведение эксперимента, написание рукописи;  
Буров О. Н. – выделение и верификация соединений из растительного материала;  
Бондаренко Е. С. – проведение цитофлуориметрического анализа;  
Сагакянц А. Б. – анализ результатов цитофлуориметрии;  
Кутилин Д. С. – редактирование рукописи;  
Дзигунова Ю. В. – сбор и определение растительного материала;  
Ишонина О. Г. – оформление библиографии, редактирование рукописи;  
Шалашная Е. В. – статистическая обработка данных;  
Ушакова Н. Д. – редактирование рукописи.  
Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи и утвердили окончательный вариант, одобренный к публикации.

---

#### Contribution of the authors:

Zlatnik E. Yu. – manuscript editing;  
Enin Ya. S. – concept and design of the study, experiment, manuscript writing;  
Burov O. N. – compound isolation and verification from plant material;  
Bondarenko E. S. – cytofluorimetric analysis;  
Sagakyants A. B. – cytofluorometry results analysis  
Kutilin D. S. – manuscript editing;  
Dzigonova Yu. V. – plant material collection and determination;  
Ishonina O. G. – bibliography design, manuscript editing;  
Shalashnaya E. V. – statistical data processing;  
Ushakova N. D. – manuscript editing.  
All authors made equivalent contributions to the preparation of the article and approved the final version for publication.