



© С.В. Тимофеева<sup>1</sup>, С.Ю. Филиппова<sup>1</sup>, Н.В. Гненная<sup>1</sup>, Т.В. Чембарова<sup>1</sup>,  
 И.В. Межевова<sup>1</sup>, Н.С. Бендерский<sup>1</sup>, Ю.С. Шатова<sup>1</sup>, Е.Н. Черникова<sup>1</sup>, Е.Ю. Златник<sup>1</sup>,  
 И.А. Новикова<sup>1</sup>, О.Н. Буров<sup>2</sup>, О.И. Кит<sup>1</sup>

## Новый индольный алкалоид, выделенный из белокопытника, с цитостатическими свойствами в отношении культур клеток рака молочной железы

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>2</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

© Sofia V. Timofeeva<sup>1</sup>, Svetlana Yu. Filippova<sup>1</sup>, Nadezhda V. Gnennaya<sup>1</sup>, Tatyana V. Chembarova<sup>1</sup>,  
 Irina V. Mezhevova<sup>1</sup>, Nikita S. Bendersky<sup>1</sup>, Yuliana S. Shatova<sup>1</sup>, Elena N. Chernikova<sup>1</sup>,  
 Elena Yu. Zlatnik<sup>1</sup>, Inna A. Novikova<sup>1</sup>, Oleg N. Burov<sup>2</sup>, Oleg I. Kit<sup>1</sup>

## A New Indole Alkaloid Isolated from Butterbur with Cytostatic Properties against Breast Cancer Cell Cultures

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

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

**Введение.** Рак молочной железы (РМЖ) является одной из ведущих причин смертности среди женщин во всем мире.

**Цель.** Изучить действие нового индольного алкалоида, выделенного из белокопытника, на культуры постоянных клеточных линий РМЖ.

**Материалы и методы.** Изучение антипролиферативных свойств нового соединения растительного происхождения, ранее выделенного нами из белокопытника гибридного и идентифицированного как индольный алкалоид (P1), проведено *in vitro* на постоянных культурах клеток рака молочной железы MDA-MB-453 (HER2+), BT-474 (люминальный с экспрессией HER2+) и BT-20 (трижды негативный), а также фибробластов кожи. Клетки культур инкубировали 48 ч с (P1), доxorубицином или их сочетаниями. Через 48 ч экспозиции ставили МТТ-тест, строили кривую доза-ответ и определяли значение IC<sub>50</sub>. Для изучения взаимодействия между доxorубицином и (P1) использовали ПО SynergyFinderPlus с применением Zero interaction potency (ZIP).

**Результаты.** У соединения (P1) установлена выраженная антипролиферативная активность в отношении клеточных культур MDA-MB-453, BT-474 и BT-20, при отсутствии значительных различий между культурами: IC<sub>50</sub> соединения (P1) составила 39,7 ± 2,4 мкмоль/л для культуры BT-20, 49,23 ± 5,2 мкмоль/л для BT-474 и 31,74 ± 3,8 мкмоль/л для MDA-MB-453. При этом жизнеспособность всех трех культур под действием тестируемого алкалоида была статистически значимо ниже, чем в культуре нормальных фибробластов. Наблюдался незначительный синергизм алкалоида (P1) и доxorубицина в культуре BT-20, в то время как в двух других культурах взаимодействие двух соединений носило, скорее, антагонистический характер, что наиболее ярко проявлялось при концентрациях (P1) выше 22 мкмоль/л. Среднее значение жизнеспособности в культурах РМЖ было статистически значимо ниже, чем в

**Introduction.** Breast cancer (BC) is one of the leading causes of death among women worldwide.

**Aim.** To study the effects of a new indole alkaloid isolated from butterbur on cultures of permanent BC cell lines.

**Materials and Methods.** We studied the antiproliferative properties of a new plant-based compound isolated from butterbur and identified as an indole alkaloid (P1) *in vitro* on permanent cultures of BC cells: MDA-MB-453 (HER2+), BT-474 (luminal with HER2+ expression) and BT-20 (triple negative), as well as skin fibroblasts. The cell cultures were incubated with (P1), doxorubicin, or a combination of the two for 48 hours. 48 hours after exposure, we performed the MTT test, plotted the dose-response curve, and calculated the IC<sub>50</sub> value. The interaction between doxorubicin and (P1) was studied using SynergyFinderPlus software with Zero Interaction Potency (ZIP).

**Results.** Compound P1 demonstrated pronounced antiproliferative activity against MDA-MB-453, BT-474 and BT-20 cell cultures, with no significant differences observed between them. The IC<sub>50</sub> values for compound (P1) were 39.7 ± 2.4 μmol/L for BT-20, 49.23 ± 5.2 μmol/L for BT-474 and 31.74 ± 3.8 μmol/L for MDA-MB-453. At the same time, the viability of all three cultures was statistically significantly lower under the action of the tested alkaloid than in normal fibroblast cultures. Slight synergism between the alkaloid (P1) and doxorubicin was observed in the BT-20 culture. In the other two cultures, however, the interaction between the two compounds was antagonistic, particularly at (P1) concentrations above 22 μmol/L. Even taking into account the correction for multiple comparisons, the average viability value in BC cultures was statistically significantly lower than in fibroblast cultures at compound (P1) concentrations of 22 μmol/L and

культуре фибробластов при концентрациях соединения (P1) 22 мкмоль/л и 44 мкмоль/л, а для культуры MDA-MB453 и при концентрации 11 мкмоль/л даже с учётом поправки на множественное сравнение.

**Выводы.** Новый индольный алкалоид, выделенный из белокопытника, проявляет цитостатическое действие на различные культуры клеток рака молочной железы при концентрациях выше 22 мкмоль/л и экспозиции 48 ч. Незначительный синергизм алкалоида (P1) с доxorубицином, обнаруженный на культуре клеток трижды негативного РМЖ BT-20, и антагонистическое действие с ним, полученное на остальных культурах, следует учитывать при проведении дальнейших исследований. Исследуемый алкалоид можно рассматривать как перспективное соединение с потенциальным угнетающим действием на клетки РМЖ.

**Ключевые слова:** вторичные метаболиты растений; алкалоиды; рак молочной железы; *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb

**Для цитирования:** Тимофеева С.В., Филиппова С.Ю., Гненная Н.В., Чембарова Т.В., Межевова И.В., Бендерский Н.С., Шатова Ю.С., Черникова Е.Н., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Буров О.Н., Кит О.И. Новый индольный алкалоид, выделенный из белокопытника, с цитостатическими свойствами в отношении культур клеток рака молочной железы. *Вопросы онкологии*. 2025; 71(3): 467-475.-DOI: DOI 10.37469/0507-3758-2025-71-3-OF-1526

✉ Тимофеева Софья Владимировна, timofeeva.sophia@gmail.com

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее часто диагностируемым раком среди женщин и занимает второе место по распространенности в глобальном масштабе. Этот тип рака представляет собой серьезную проблему для общественного здравоохранения, так как он диагностируется у миллионов женщин по всему миру. Согласно мировой статистике, в 2022 году 31 % женщин столкнулись с диагнозом РМЖ, а уровень смертности достиг 21 % [1]. В настоящее время стандартные методы терапии РМЖ включают хирургическое вмешательство, радиотерапию и химиотерапию [2]. Химиотерапия играет важную роль в лечении этого заболевания, и одним из наиболее часто используемых препаратов является доxorубицин. Этот препарат с противоопухолевой активностью входит в схемы лечения РМЖ [3]. Однако его применение сопряжено с определенными рисками. Среди серьезных побочных эффектов выделяют кардиотоксичность, которая может привести к повреждению сердечной мышцы, и развитие лекарственной резистентности, что затрудняет дальнейшее лечение. В связи с этим продолжаются исследования, направленные на поиск более безопасных и эффективных альтернативных методов терапии, которые могли бы минимизировать побочные эффекты и улучшить прогноз для пациенток с РМЖ [4]. Исследования демонстрируют, что использование комбинации природных соединений в качестве химиосенсибилизаторов вместе с традиционной химиотерапией может снизить

44  $\mu\text{mol/L}$ , and in MDA-MB453 cultures at a concentration of 11  $\mu\text{mol/L}$ .

**Conclusion.** A new indole alkaloid, isolated from butterbur, exhibits a cytostatic effect on various breast cancer cell cultures when exposed to concentrations above 22  $\mu\text{mol/L}$  for 48 hours. Further studies could focus on the slight synergistic effect of the alkaloid (P1) with doxorubicin, which was observed in triple-negative BT-20 BC cell cultures, as well as the antagonistic effect obtained in other cultures. The alkaloid under study can be considered a promising compound with the potential to inhibit BC cells.

**Keywords:** plant secondary metabolites; alkaloids; breast cancer; *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb

**For Citation:** Sofia V. Timofeeva, Svetlana Yu. Filippova, Nadezhda V. Gnennaya, Tatyana V. Chembarova, Irina V. Mezhevovala, Nikita S. Bendersky, Yuliana S. Shatova, Elena N. Chernikova, Elena Yu. Zlatnik, Inna A. Novikova, Oleg N. Burov, Oleg I. Kit. A new indole alkaloid isolated from butterbur with cytostatic properties against breast cancer cell cultures. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2025; 71(3): 467-475.-DOI: DOI 10.37469/0507-3758-2025-71-3-OF-1526

токсичность и повысить эффективность терапии РМЖ [5]. Химиосенсибилизатор — это соединение, которое увеличивает чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии, позволяя применять более низкие дозы препаратов и снижая риск побочных эффектов [6]. Одним из типов химиосенсибилизаторов могут быть вторичные метаболиты растений (ВМР), включая флавоноиды, алкалоиды, терпены и фенольные соединения [7, 8]. ВМР представляют собой важный объект исследования в области онкологии. Их многообразие и различные механизмы действия открывают новые возможности для разработки эффективных методов лечения РМЖ. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования для подтверждения их клинической эффективности и безопасности [4].

Соединение (P1), которое мы тестировали в нашем исследовании, относится к индольным алкалоидам и родственно по структуре алкалоидам, выделяемым из растений рода *Corynanthe* sp., которые обладают анальгезирующим и противовоспалительным свойствами [7] (рис. 1).

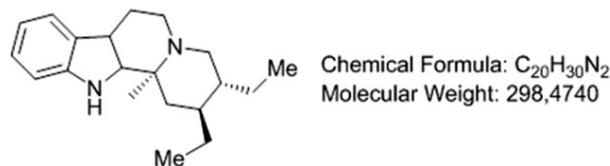


Рис. 1. Структурная формула соединения (P1) из *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb  
Fig. 1. Structural formula of the compound (P1) obtained from *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb

Нами описано повреждающее действие данного соединения на культуры клеток рака поджелудочной железы и немелкоклеточной аденокарциномы лёгкого [9]. Предыдущие исследования продемонстрировали способность других индольных алкалоидов также ингибировать пролиферацию опухолевых клеток и вызывать апоптоз, что делает соединение (P1) перспективным кандидатом для дальнейшего изучения в контексте противоопухолевой терапии [10, 11]. В исследовании Woo et al., (2016) было показано, что при сочетании доксорубина с соединениями ряда ВМР достигается синергетический эффект в виде повышения цитотоксического действия по сравнению с использованием каждого из них по отдельности [12].

Синергизм в противоопухолевой терапии имеет несколько ключевых аспектов. Во-первых, комбинирование препаратов с различными механизмами действия может значительно повысить эффективность лечения, усиливая ингибирование опухолевого роста и метастазирования. Во-вторых, использование меньших доз каждого препарата в комбинации позволяет снизить токсичность и уменьшить побочные эффекты, что важно для поддержания качества жизни пациентов. Наконец, синергетические комбинации могут помочь преодолеть лекарственную резистентность, часто возникающую при монотерапии [13]. В литературе есть данные о возможности индукции синергизма при совместном применении цитостатиков и ВМР: например, в исследовании Sarkar et al. (2023) показано, что комбинация куркумина и доксорубина приводит к значительному увеличению индукции апоптоза по сравнению с использованием только доксорубина [14, 15]. Цель исследования — изучить действие нового индольного алкалоида, выделенного из белокопытника, на культуры постоянных линий РМЖ.

### Материалы и методы

Исследуемое соединение было выделено из *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., В. Mey. & Scherb. с использованием тетрахлорэтилена и идентифицировано как индольный алкалоид с рабочим названием P1 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и ядерного магнитного резонанса, аналогично методике, опубликованной нами ранее [5]. После очистки алкалоид растворяли в ДМСО (Биолот, Россия) для получения стокового раствора с концентрацией 8,8 ммоль/л. В исследованиях с доксорубицином в качестве стокового раствора применяли препарат Доксорубин-ЛЭНС® (50 мг/25 мл).

Клеточные линии РМЖ человека MDA-MB453 (ER-, PR-, HER2+), BT-474 (ER+, PR+, HER2+)

и BT-20 (ER-, PR-, HER2-) были получены из коллекции культур клеток позвоночных ФГБУН Институт цитологии РАН (г. Санкт-Петербург). Культуры поддерживали в среде полной питательной среде (ППС) на основе среды DMEM (глюкоза 25 ммоль/л) (Servicebio, Китай) с добавлением 10 % фетальной телячьей сыворотки (FBS) (Hyclone, США), 1 % пенициллина-стрептомицина (Биолот, Россия) и 1 % глутамина (Биолот, Россия) и инкубировали при 37°C и содержании CO<sub>2</sub> 5,0 %.

Нормальные фибробласты, взятые в качестве неопухолевой (контрольной) культуры, были получены из кожи, удаленной при мастэктомии, проведенной по поводу лечения РМЖ в отделении опухолей костей, кожи и мягких тканей ФГБУ «НМИЦ онкологии» г. Ростова-на-Дону. После получения из операционной образец подвергали ферментации в растворе коллагеназы I типа (300 ед/мл) (ПанЭко, Россия) в течение 1 часа при 37 °С. Полученную клеточную суспензию дважды отмывали в среде DMEM (глюкоза 25 ммоль/л) (Servicebio, Китай) и высаживали на культуральный флакон. Далее культуру фибробластов выращивали в среде DMEM (глюкоза 25 ммоль/л) (Servicebio, Китай) с добавлением 20 % фетальной телячьей сыворотки (FBS) (Hyclone, США), 1 % гентамицина (Биолот, Россия) и 1 % глутамина (Биолот, Россия) и инкубировали при 37 °С и содержании CO<sub>2</sub> 5,0 %.

Для оценки влияния исследуемого индольного алкалоидного соединения (P1) на состояние культур клеток использовали МТТ-тест. Клетки высаживали в 96-луночные планшеты (5 × 10<sup>3</sup> клеток на лунку) в 100 мкл ППС. После адгезии клеток ко дну планшета среду заменяли на ППС с добавлением тестируемых соединений в серии двукратных разведений: P1 от 44 мкмоль/л до 0,17 мкмоль/л, доксорубин от 15 мкмоль/л до 0,06 мкмоль/л, а также их сочетаний. Каждый вариант опыта ставили в 8 повторах. Клетки инкубировали в течение 48 ч, после чего проводили МТТ тест по стандартной методике [16]. Жизнеспособность клеток определяли, как отношение оптической плотности при 540 нм в опытных лунках к значению этого показателя в контрольных лунках, выраженное в процентах. Каждый эксперимент ставили 3 раза. Статистическую обработку результатов проводили в ПО MS Excel. Результаты приведены, как среднее значение ± SD. Достоверность разницы между средними значениями жизнеспособности определяли с помощью t критерия Стьюдента с учетом поправки Бонферрони.

Построение кривых доза-ответ и определение показателя половинной ингибирующей концентрации IC<sub>50</sub> производили с помощью онлайн инструмента IC50 Calculator («Quest Database™

Common Enzymes/Proteins and Their Inhibitors.» AAT Bioquest, Inc., 14 Feb. 2025, <https://www.aatbio.com/data-sets/common-enzymes-proteins-and-their-inhibitors>).

Методы определения синергизма препаратов в онкологии являются многообразными и включают как *in vitro*, так и *in vivo* подходы, а также клинические исследования [15]. В данной работе для изучения взаимодействия между доксорубицином и (P1) мы использовали вычислительные методы, основанные на модели, предполагающей нулевую эффективность взаимодействия (Zero interaction potency, ZIP). Эта модель является дальнейшим развитием подхода, заложенного в моделях независимого взаимодействия Бласса и аддитивности Лоу. Оценка взаимодействия лекарств по модели ZIP происходит путем сравнения изменений в силе кривых доза-ответ между отдельными и комбинированными лекарствами. Предполагается, что лекарства независимы и не взаимодействуют друг с другом при комбинировании, что приводит к минимальным изменениям в их кривых доза-ответ при комбинировании [17]. Определение уровня синергии между исследуемым соединением (P1) и доксорубицином с использованием модели ZIP проводили с помощью онлайн инструмента SynergyFinderPlus (<https://synergyfinderplus.org/>).

## Результаты

Результаты представлены на рис. 2-4. Как видно из рис. 2, алкалоид (P1) проявляет специфическое дозо-зависимое антипролиферативное действие в отношении всех трех исследованных культур злокачественных клеток. Среднее значение

жизнеспособности в культурах РМЖ было статистически значимо ниже, чем в культуре фибробластов при концентрациях соединения (P1) 22 мкмоль/л и 44 мкмоль/л, а для культуры MDA-MB453 и при концентрации 11 мкмоль/л даже с учётом поправки на множественное сравнение (рис. 2). Кроме того, выявлены достоверные различия в жизнеспособности под действием (P1) культур РМЖ между собой. Так, наиболее подверженной действию (P1) при его концентрациях 22 и 44 мкмоль/л оказалась культура MDA-MB453.

Результаты исследования соединения (P1) в МТТ-тесте продемонстрировали его выраженную антипролиферативную активность в отношении всех трех клеточных культур РМЖ, которые, однако, не показали значительных различий чувствительности к тестируемому алкалоиду: половинная ингибирующая концентрация (P1) составила  $39,7 \pm 2,4$  мкмоль/л для культуры BT-20,  $49,23 \pm 5,2$  мкмоль/л для BT-474 и  $31,74 \pm 3,8$  мкмоль/л для MDA-MB-453 (рис. 3). Вместе с тем, цитостатическая активность соединения (P1) была значительно ниже, чем у доксорубицина, чувствительность к которому разных линий варьировала в более широких пределах ( $IC_{50}$  BT-20= $0,51 \pm 0,04$  мкмоль/л,  $IC_{50}$  BT-474= $10,4 \pm 1,8$  мкмоль/л и  $IC_{50}$  MDA-MB-453= $0,94 \pm 0,1$  мкмоль/л).

Исследование характера взаимодействия двух препаратов осуществлялось путём определения показателя оценки синергии (*synergy score*, SS), рассчитываемого в ПО SynergyFinderPlus [18]. Положительные значения SS выше 10 свидетельствуют о значительной синергии между тестируемыми соединениями, отрицательные

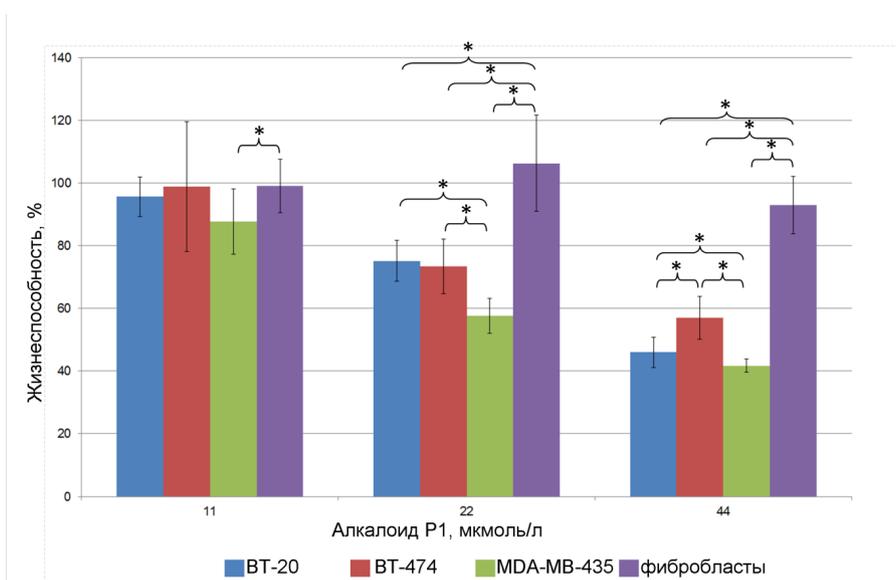


Рис. 2. Антипролиферативное действие алкалоида P1 в отношении культур РМЖ MDA-MB453, BT-474 и BT-20 и фибробластов подкожной клетчатки. \* Различия между средними значениями достоверны,  $p < 0,05$   
 Fig. 2. The antiproliferative effect of alkaloid P1 on BC cell lines (MDA-MB-453, BT-474, and BT-20) and subcutaneous tissue fibroblasts. \* Differences between mean values are significant ( $p < 0,05$ )

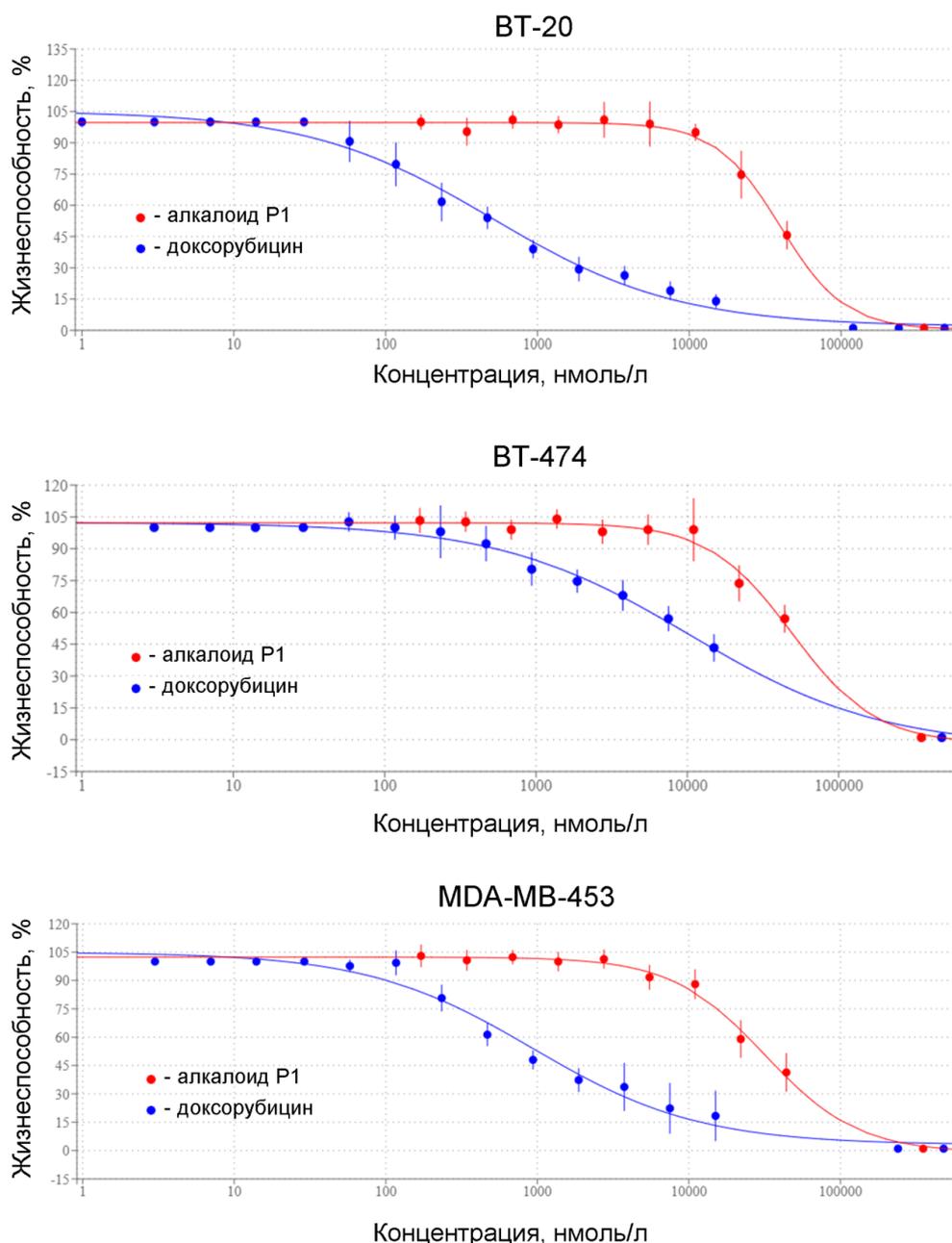


Рис. 3. Цитостатическая активность соединения P1 в отношении клеточных культур РМЖ MDA-MB453, BT-474 и BT-20 в сравнении с доксорубицином

Fig. 3. Cytostatic activity of compound P1 against breast cancer cell cultures MDA-MB453, BT-474 and BT-20 in comparison with doxorubicin

значения меньше -10, напротив, говорят о выраженном антагонизме между ними, значения от -10 до 10 Zheng и соавт. рекомендуют интерпретировать, как свидетельство об аддитивном взаимодействии двух соединений [18].

Исследование совместного действия соединения (P1) и доксорубицина показало, что данный алкалоид обладает, скорее, потенциалом антагонистического действия при его одновременном применении с доксорубицином. Показатель SS лежал в области отрицательных значений для всех трёх исследованных культур (рис. 4). При этом на культуре BT-20 картина сочетания двух соединений свидетельствовала скорее об адди-

тивном взаимодействии, так как средний показатель SS был слабо отрицательным и равнялся -2,66 ( $p=4,57 \cdot 10^{-7}$ ). В том же диапазоне концентраций на культуре MDA-MB-453 антагонизм (P1) и доксорубицина усиливается (средний  $SS_{MDA-MB-453} = -8,23$ ,  $p=3,65 \cdot 10^{-18}$ ), что особенно заметно при высоких концентрациях алкалоида, где значения SS опускаются ниже -17. Наконец, на культуре BT-474 был продемонстрирован наиболее высокий антагонизм двух соединений, особенно выраженный, начиная от концентрации исследуемого алкалоида равной 22 мкмоль/л, где SS опускаются ниже -20 при среднем  $SS_{BT-474} = -14,98$  ( $p=7,87 \cdot 10^{-7}$ ) (рис. 4).

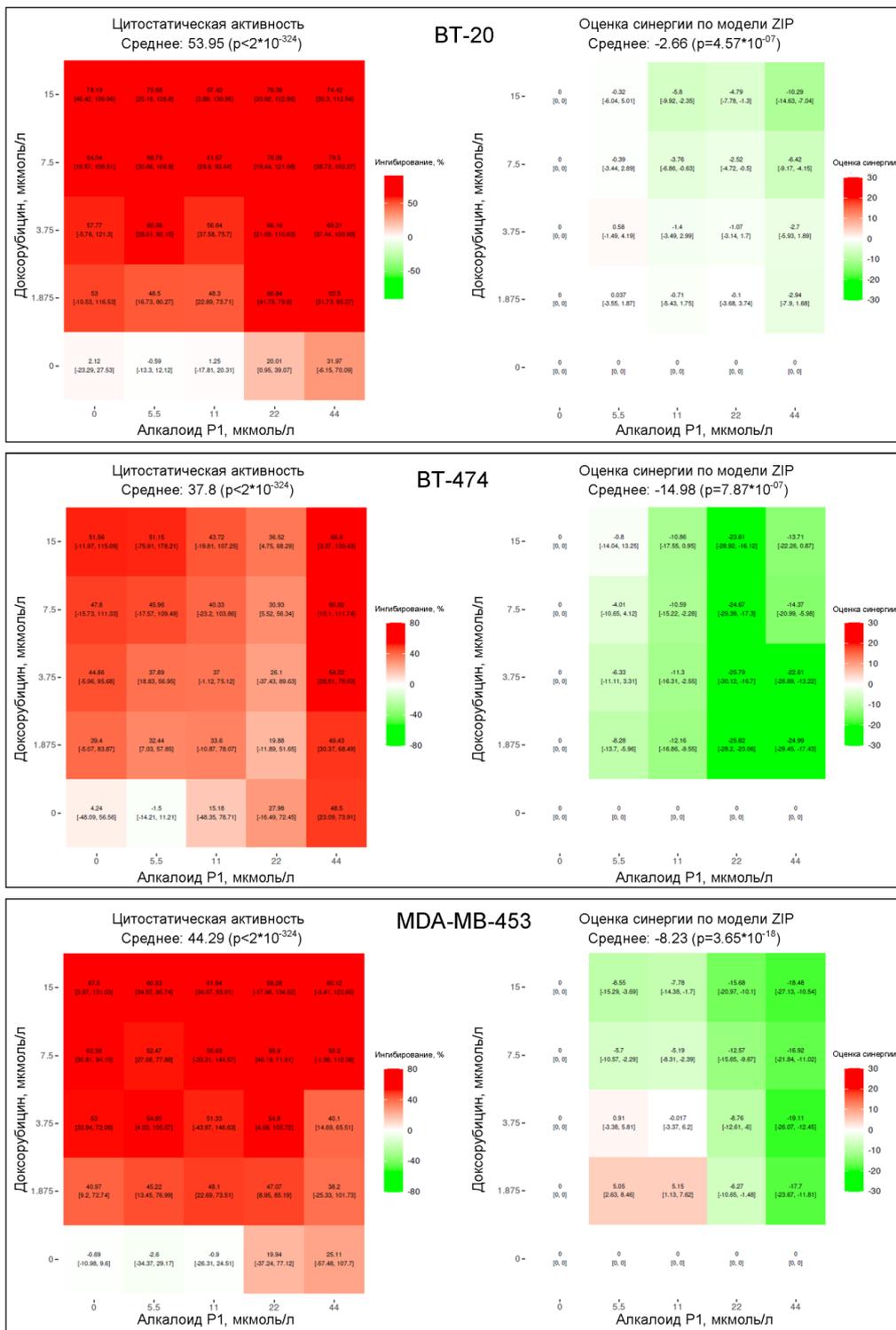


Рис. 4. Цитостатическое действие доксорубина и алкалоида P1 на клетки культур рака молочной железы при совместном применении и показатель оценки синергии для сочетания двух тестируемых соединений  
Fig. 4. The cytostatic effect of doxorubicin and alkaloid P1 on BC cell cultures when used together, and the synergy assessment index for the combination of the two compounds tested

### Обсуждение

В ходе проведенного исследования было оценено действие индольного алкалоида (P1), выделенного из белокопытника, на культуры злокачественных клеток РМЖ различных линий и фибробластов кожи и показано, что при концен-

трациях 22 мкмоль/л и 44 мкмоль/л цитотоксичность P1 в отношении злокачественных клеток всех трех линий РМЖ была выше, чем в отношении фибробластов. Это свидетельствует о селективном действии соединения (P1), что может минимизировать повреждение нормальных клеток при применении данного алкалоида.

Возможные механизмы, объясняющие более высокую цитотоксическую активность (P1) в отношении злокачественных клеток, могут включать различия в метаболизме, экспрессии целевых молекул или молекулярных путей, вовлеченных в апоптоз [19]. Например, злокачественные клетки могут иметь повышенные уровни определенных рецепторов CD95, EGFR и HER2 или ферментов, таких как циклооксигеназа-2 (COX-2), глутатион-S-трансфераза, которые активируют P1, делая опухолевые клетки более чувствительными к индукции апоптоза под действием этого соединения [20]. Сравнение соединения (P1) с другими ВМР показывает, что (P1) также может действовать через различные механизмы, включая индукцию окислительного стресса и активацию путей, связанных с клеточной смертью [4]. Например, Luo et al. (2022) показали, что экстракты растений, содержащие алкалоиды, полифенолы, терпеноиды, способны ингибировать пролиферацию и вызывать апоптоз клеток РМЖ через активацию каспаз и подавление сигнальных путей, связанных с выживанием клеток [21].

Исследованное нами взаимодействие алкалоида (P1) и доксорубина оказалось разнонаправленным при использовании различных клеточных культур РМЖ. Только в культуре BT20 наблюдалось аддитивное взаимодействие, в то время как в культурах MDA-MB-453 и BT474 фиксировалось явное антагонистическое взаимодействие, максимальное в последнем случае. Такие различия могут быть связаны с особенностями клеточной линии и изменениями в сигнальных путях. В литературе отмечено, что линия MDA-MB-453, в отличие от ряда других, чувствительна к индолному алкалоиду гирсутеин, и ее чувствительность соответствует установленной нами для алкалоида (P1) [22]. Интересно, что в нашем исследовании линия BT474 проявила наименьшую по сравнению с остальными чувствительность к доксорубину, и именно на ней было показано наиболее выраженное антагонистическое действие доксорубина и растительного алкалоида. В исследовании Ghosh et al., (2020), где также оценивалось влияние комбинации доксорубина и растительного алкалоида (винкристина), на клеточные линии рака молочной железы, было показано, что при определенных концентрациях винкрисина синергетически усиливал эффект доксорубина, но при высоких концентрациях наблюдалось антагонистическое взаимодействие [23]. Взаимодействие между препаратами может зависеть от множества факторов, включая дозу, время введения и молекулярные характеристики опухоли [15].

Таким образом, несмотря на обнадеживающие результаты, для более глубокого понимания механизмов действия соединения (P1), его фармакокинетики и потенциальных взаимодействий с другими препаратами необходимы дальнейшие исследования. Тем не менее, его можно рассматривать как перспективное соединение с потенциальным угнетающим действием на клетки РМЖ.

## Выводы

Новый индолный алкалоид, выделенный из белокопытника, проявляет цитостатическое действие на различные культуры клеток РМЖ, происходящие из люминальных, HER2+ и трижды негативных опухолей при концентрациях выше 22 мкмоль/л и экспозиции 48 ч.

Незначительный синергизм алкалоида (P1) с доксорубином был обнаружен только на культуре клеток трижды негативного РМЖ BT-20, на остальных культурах отмечено антагонистическое действие с ним, что следует учитывать при проведении дальнейших исследований.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

### Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА в редакции 2013 г. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ — протокол № 5/223 от 06.09.2024. Пациенты подписывали информированное согласие на дачу биологического материала.

### Compliance with patient rights and principles of bioethics

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of Declaration of Helsinki Protocol (2013). The study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Centre for Oncology in Rostov-on-Don, Russian Federation. Protocol No. 5/223, dated 06/09/2024. All patients gave written informed consent to participate in the study.

### Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания «Поиск натуральных и синтетических вторичных метаболитов растений, обладающих противоопухолевыми и иммунокорректирующими свойствами на моделях in vitro и in vivo», номер регистрации 124022100044-2 от 2024 г. Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «НМИЦ онкологии» МЗ РФ (per. № 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>)

### Funding

The study was carried out with financial support from the state assignment 'Search for Natural and Synthetic Secondary Plant Metabolites with Antitumor and Immunocorrective Properties in In Vitro and In Vivo Models', registration number 124022100044-2 (2024). The study was conducted using equipment from the Center for Collective Use of the National Medical Research Institute of Oncology (NMITs) of

the Ministry of Health of the Russian Federation (registration No. 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

#### Участие авторов

Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработке концепции статьи, получении и анализе фактических данных, написании и редактировании текста статьи, проверке и утверждении текста статьи. Тимофеева С.В. — написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

Филиппова С.Ю. — анализ и обработка полученных данных эксперимента;

Златник Е.Ю. — курирование эксперимента;

Новикова И.А. — курирование эксперимента;

Гненная Н.В. — получение данных для анализа;

Чембарова Т.В. — получение данных для анализа;

Межева И.В. — получение данных для анализа;

Бендерский Н.С. — получение данных для анализа;

Шатова Ю.С. — предоставление биоматериала для исследования;

Черникова Е.Н. — предоставление биоматериала для исследования;

Буров О.Н. — разработка и предоставление химических веществ;

Кит О.И. — курирование эксперимента.

#### Authors' contributions

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition and analysis of data, drafting and editing the article, revising and final approval of the version to be published.

Timofeeva S.V. — drafted the manuscript and reviewed relevant publications on the topic;

Filippova S.Yu. — analyzed and processed the obtained experimental data;

Zlatnik E.Yu. — supervised the experiment;

Novikova I.A. — supervised the experiment;

Gnennaya N.V. — obtained data for analysis;

Chembarova T.V. — obtained data for analysis;

Mezheva I.V. — obtained data for analysis;

Bendersky N.S. — obtained data for analysis;

Shatova Yu.S. — provided the biomaterials for the study;

Chernikova E.N. — provided biomaterial for the study;

Burov O.N. — developed and provided chemicals;

Kit O.I. — supervised the experiment.

#### Благодарности

Авторы благодарят Енина Ярослава Сергеевича (лаборатория молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону) за помощь в проведении исследования.

#### Acknowledgments

The authors would like to thank Yaroslav S. Enin of the Molecular Oncology Laboratory at the Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation in Rostov-on-Don for his assistance in conducting the study.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Siegel R.L., Miller K.D., Fuchs H.E., et al. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022; 72: 7-33.-DOI: 10.3322/caac.21708.
- Кит О.И., Шатова Ю.С., Франциянц Е.М., et al. Путь к персонализированной тактике лечения больных раком молочной железы. *Вопросы онкологии.* 2017; 63(5): 719-723.-DOI: 10.37469/0507-3758-2017-63-5-719-723.
- Новикова И.А., Шатова Ю.С., Златник Е.Ю., et al. Проллиферативные и иммунологические характеристики молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2014; 11-1: 116-119. [Novikova I.A., Shatova Yu.S., Zlatnik E.Yu., et al. Proliferative and immunological characteristics of molecular subtypes of breast cancer. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2014; 11-1: 116-119 (In Rus)].
- Sharma P., Gupta K., Khandai S.K., et al. Phytometabolites as modulators of breast cancer: a comprehensive review of mechanistic insights. *Med Oncol.* 2024; 41(2): 45.-DOI: 10.1007/s12032-023-02269-2.
- Златник Е.Ю., Енин Я.С., Буров О.Н., et al. Молекулярно-клеточные аспекты воздействия вторичных метаболитов барбариса обыкновенного и белокопытника гибридного на клеточную линию HeLa. *Исследования и практика в медицине.* 2023; 10(4): 31-47.-DOI: 10.17709/2410-1893-2023-10-4-3. [Zlatnik E.Yu., Enin Ya.S., Burov O.N., et al. Molecular and cellular aspects of the effect of secondary metabolites of common barberry and hybrid butterbur on the HeLa cell line. *Research and Practice in Medicine.* 2023; 10(4): 31-47.-DOI: 10.17709/2410-1893-2023-10-4-3 (In Rus)].
- Guestini F., McNamara K.M., Sasano H. The use of chemosensitizers to enhance the response to conventional therapy in triple-negative breast cancer patients. *Breast Cancer Management.* 2017; 6(4): 127-131.-DOI: 10.2217/bmt-2017-0030.
- Li J., Li J.X., Jiang H., et al. Phytochemistry and biological activities of corynanthe alkaloids. *Phytochemistry.* 2023; 213: 113786.-DOI: 10.1016/j.phytochem.2023.113786.
- Филиппова С.Ю., Тимофеева С.В., Ситковская А.О., et al. Влияние берберина на энергетический фенотип клеток линий рака молочной железы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2021; 10: 42-46. [Filippova S.Yu., Timofeeva S.V., Sitkovskaya A.O., et al. Effect of berberine on the energy phenotype of breast cancer cell lines. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2021; 10: 42-46 (In Rus)].
- Межева И.В., Филиппова С.Ю., Чембарова Т.В., et al. Некоторые вторичные растительные метаболиты как перспективные кандидаты для лечения рака лёгкого и рака поджелудочной железы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2024; 27(9): 32-40.-DOI: 10.29296/25877313-2024-09-05. [Mezheva I.V., Filippova S.Yu., Chembarova T.V., et al. Some secondary plant metabolites as promising candidates for the treatment of lung cancer and pancreatic cancer. *Issues of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry.* 2024; 27(9): 32-40.-DOI: 10.29296/25877313-2024-09-05 (In Rus)].
- Qin R., You F.M., Zhao Q., et al. Naturally derived indole alkaloids targeting regulated cell death (RCD) for cancer therapy: from molecular mechanisms to potential therapeutic targets. *J Hematol Oncol.* 2022; 15(1): 133.-DOI: 10.1186/s13045-022-01350-z.
- Тимофеева С.В., Филиппова С.Ю., Ситковская А.О., et al. Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей ФГБУ НМИЦ онкологии Минздрава Рос-

- сии. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022; 21(11): 44-50.-DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3397. [Timofeeva S.V., Filippova S.Yu., Sitkovskaya A.O., et al. Bioresource collection of cell lines and primary tumors of the Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022; 21(11): 44-50.-DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3397 (In Rus)].
12. Woo S., Kim A.J., Choi Y.K., et al. Synergistic Effect of SH003 and doxorubicin in triple-negative breast cancer. *Phytotherapy Research*. 2016; 30(11): 1817-23.-DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.5687>.
  13. Jalali F., Fakhari F., Sepehr A., et al. Synergistic anticancer effects of doxorubicin and metformin combination therapy: A systematic review. *Transl Oncol*. 2024; 45: 101946.-DOI: 10.1016/j.tranon.2024.101946.
  14. Sarkar E., Khan A., Ahmad R., et al. Synergistic anticancer efficacy of curcumin and doxorubicin combination treatment inducing S-phase cell cycle arrest in triple-negative breast cancer cells: an in vitro study. *Cureus*. 2024; 16(12): e75047.-DOI: 10.7759/cureus.75047.
  15. Duarte D., Vale N. Evaluation of synergism in drug combinations and reference models for future orientations in oncology. *Curr Res Pharmacol Drug Discov*. 2022; 12(3): 100110.-DOI: 10.1016/j.crphar.2022.100110.
  16. Kumar P., Nagarajan A., Uchil P.D. Analysis of cell viability by the MTT assay. *Cold Spring Harb Protoc*. 2018; 2018(6).-DOI: 10.1101/pdb.prot095505.
  17. Yadav B., Wennerberg K., Aittokallio T., Tang J. Searching for drug synergy in complex dose-response landscapes using an interaction potency model. *Comput Struct Biotechnol J*. 2015; 13: 504-13.-DOI: 10.1016/j.csbj.2015.09.001.
  18. Zheng S., Wang W., Aldahdooh J., et al. SynergyFinder plus: toward better interpretation and annotation of drug combination screening datasets. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 2022; 20: 587-596.-DOI: 10.1016/j.gpb.2022.01.004.
  19. Timofeeva V., Kit O.I., Filippova S. Yu., et al. Some plant metabolites from petasites sp. and their effect on cancer cells motility in vitro. *Journal of Clinical Oncology*. 2022; 40(16): 15077.-DOI: 10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.e15077.
  20. Филиппова С.Ю., Ситковская А.О., Тимофеева С.В., et al. Применение силиконового покрытия для оптимизации процесса получения клеточных сфероидов методом висячей капли. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2022; 3(3): 15-23.-DOI: 10.37748/2686-9039-2022-3-3-2. [Filippova S.Yu., Sitkovskaya A.O., Timofeeva S.V., et al. Application of silicone coating to optimize the process of obtaining cell spheroids by the hanging drop method. *South-Russian Journal of Oncology*. 2022; 3(3): 15-23.-DOI: 10.37748/2686-9039-2022-3-3-2 (In Rus)].
  21. Luo M.L., Huang W., Zhu H.P., et al. Advances in indole-containing alkaloids as potential anticancer agents by regulating autophagy. *Biomed Pharmacother*. 2022; 149: 112827.-DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112827.
  22. Meng J., Yuan Y., Li Y., Yuan B. Effects of hirsuteine on MDA-MB-453 breast cancer cell proliferation. *Oncol Lett*. 2022; 25(1): 4.-DOI: 10.3892/ol.2022.13590.
  23. Ghosh S., Lalani R., Maiti K., et al. Optimization and efficacy study of synergistic vincristine coloaded liposomal doxorubicin against breast and lung cancer. *Nanomedicine (Lond)*. 2020; 15(26): 2585-2607.-DOI: 10.2217/nnm-2020-0169.

Поступила в редакцию / Received / 27.02.2025  
 Прошла рецензирование / Reviewed / 24.05.2025  
 Принята к печати / Accepted for publication / 19.06.2025

**Сведения об авторах / Authors' Information / ORCID**

Софья Владимировна Тимофеева / Sofia V. Timofeeva / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5945-5961>; eLibrary SPIN: 5362-1915; ResearcherID (WOS): L-8536-2016; Author ID (Scopus): 57243356500.

Светлана Юрьевна Филиппова / Svetlana Yu. Filippova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>; eLibrary SPIN: 9586-2785; ResearcherID (WOS): AAN-4408-2020; Author ID (Scopus): 57189618843.

Елена Юрьевна Златник / Elena Yu. Zlatnik / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>; eLibrary SPIN: 4137-7410; Author ID (Scopus): 6603160432.

Инна Арнольдовна Новикова / Inna A. Novikova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>; Author ID (Scopus): 57202252773.

Надежда Владимировна Гненная / Nadezhda V. Gnennaya / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3691-3317>; eLibrary SPIN: 9244-2318; ResearcherID (WOS): AGO-3908-2022; Author ID (Scopus): 57214806863.

Татьяна Владимировна Чембарова / Tatyana V. Chembarova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>; eLibrary SPIN: 5426-1873; ResearcherID (WOS): AAR-3198-2021; Author ID (Scopus): 57221303597.

Ирина Валентиновна Межевова / Irina V. Mezhevova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7902-7278>; eLibrary SPIN: 3367-1741; ResearcherID (WOS): AAI-1860-2019; Author ID (Scopus): 57296602900.

Олег Николаевич Буров / Oleg N. Burov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7704-033X>.

Никита Сергеевич Бендерский / Nikita S. Bendersky / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7902-7278>.

Юлиана Сергеевна Шатова / Yuliana S. Shatova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1748-9186>; eLibrary SPIN: 8503-3573; ResearcherID (WOS): Y-6150-2018; Author ID (Scopus): 57200279683.

Елена Николаевна Черникова / Elena N. Chernikova / eLibrary SPIN: 6933-3491.

Олег Иванович Кит / Oleg I. Kit / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>; ResearcherID (WOS): U-2241-2017; Author ID (Scopus): 55994103100.

