

ВЛИЯНИЕ НОВОГО АЛКАЛОИДА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ БЕЛОКОПЫТНИКА ГИБРИДНОГО, НА ПОДВИЖНОСТЬ КЛЕТОК ИММОРТАЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Филиппова С.Ю.¹, Чембарова Т.В.¹, Златник Е.Ю.¹, Межевова И.В.¹, Гненная Н.В.¹,
Мироненко И.Н.¹, Новикова И.А.¹, Тимофеева С.В.¹, Дженкова Е.А.¹,
Гончарова А.С.¹, Буров О.Н.²

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: tanyshamova@mail.ru

²ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

Метастатический колоректальный рак представляет собой летальное заболевание, основным методом лечения которого является системная терапия. Ввиду того, что опухолевые клетки развивают устойчивость к химиотерапевтическим препаратам, изучение свойств вторичных метаболитов растений, в том числе алкалоидов, потенциально способных подавлять подвижность клеток и тем самым останавливать процесс метастазирования колоректального рака, является актуальной областью исследований. Целью работы было изучить влияние нового алкалоида, выделенного из белокопытника гибридного, на подвижность клеток immortalized клеточных линий колоректального рака. В работе были использованы три immortalized клеточные линии колоректального рака: HT-29, HCT 116 и Caco-2. Алкалоид P1 выделяли из растений белокопытника гибридного *Petasites hybridus* (L.). Влияние P1 на подвижность клеток указанных клеточных линий определяли методом зарастания дефекта монослоя с использованием автоматического имиджера LionheartFX (BioTek, США). В результате исследования было установлено, что P1 вызвал статистически значимое снижение степени зарастания дефекта монослоя только в культуре HT-29: в концентрации 11 мкмоль/л с $70,2 \pm 18\%$ в контроле до $56,87 \pm 12,2\%$ в опыте ($t=2.21$, $df=70$), в концентрации 5,5 мкмоль/л до $59,13 \pm 12,2\%$ в опыте, однако разница со значением данного параметра в контроле оказалась статистически не значимой ($t=1,81$, $df=70$); концентрация 2,75 мкмоль/л уже не вызвала заметного снижения подвижности клеток (степень зарастания дефекта равна $75,67 \pm 6,5\%$). Алкалоид P1 оказал ингибирующее влияние на подвижность клеток только в культуре HT-29. Для установления механизма действия P1 на подвижность клеток линии HT-29 необходимо провести дальнейшее его изучение с применением более широко арсенала молекулярно-генетических и биоинформатических методов.

Ключевые слова: колоректальный рак, метастазирование, подвижность клеток, алкалоиды, зарастание дефекта монослоя, вторичные метаболиты растений.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания «Поиск натуральных и синтетических вторичных метаболитов растений, обладающих противоопухолевыми и иммунокорригирующими 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 (рег. № 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

EFFECT OF A NEW ALKALOID ISOLATED FROM HYBRID BUTTERBUR ON CELL MOTILITY OF IMMORTALIZED COLORECTAL CANCER CELL LINES

Filippova S.Yu.¹, Chembarova T.V.¹, Zlatnik E.Yu.¹, Mezhevova I.V.¹, Gnennaya N.V.¹,
Mironenko I.N.¹, Novikova I.A.¹, Timofeeva S.V.¹, Dzhenkova E.A.¹, Goncharova A.S.¹,
Burov O.N.²

¹National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: tanyshamova@mail.ru;

²Southern Federal University, Rostov-on-Don

As tumor cells develop resistance to chemotherapeutic drugs, studying the properties of secondary plant metabolites, including alkaloids, which are potentially capable of suppressing cell motility and thereby stopping the process of colorectal cancer metastasis, is a relevant research area. The aim of the study was to explore the effect of a new alkaloid isolated from hybrid butterbur on the cell motility of immortalized colorectal cancer cell lines. The following three immortalized colorectal cancer cell lines were used in the study: HT-29, HCT 116 and Caco-2. Alkaloid P1 was isolated from hybrid butterbur *Petasites hybridus* (L.) plants. The effect of P1 on the cell

motility of the cell lines listed above was determined by the wound healing assay using the LionheartFX automatic imager (BioTek, USA). The study showed that P1 caused a significant decrease in wound healing only in the HT-29 cell culture. The concentration of 11 $\mu\text{M/L}$ decreased wound healing from $70.2\pm 18\%$ in the control to $56.87\pm 12.2\%$ in the experiment ($t=2.21$, $df=70$). The concentration of 5.5 $\mu\text{M/L}$ decreased wound healing to $59.13\pm 12.2\%$ wound healing in the experiment, however, the difference with the value of this parameter in the control was not significant ($t=1.81$, $df=70$). The concentration of 2.75 $\mu\text{M/L}$ no longer caused a noticeable decrease in cell motility (the degree of wound healing was $75.67\pm 6.5\%$). Alkaloid P1 had an inhibitory effect on cell motility only in the HT-29 culture. To establish the mechanism of action of P1 on the motility of HT-29 cells, it is necessary to conduct further study using a wider range of molecular and bioinformatic methods.

Keywords: colorectal cancer, metastasis, cell motility, alkaloids, wound healing assay, secondary plant metabolites.

The study was carried out with the financial support of 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 from 2024.

The study was carried out using the equipment of the Center for Collective Use of "National Medical Centre for Oncology" (registration No. 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

Введение

Метастатический колоректальный рак (КРР) представляет собой летальное заболевание с пятилетней выживаемостью, составляющей 14% [1]. В свою очередь метастатическое поражение составляет около 50–60% всех случаев КРР [2]. В клинической практике для химиотерапии метастатического КРР (мКРР) используются такие препараты, как 5-фторурацил (5-FU), капецитабин, иринотекан и оксалиплатин, а также фолиновая кислота, которая действует синергично с 5-FU. Эти препараты демонстрируют высокую эффективность, тем не менее сопряженную с высокой токсичностью в отношении здоровых клеток. Помимо этого, опухолевые клетки развивают устойчивость к химиотерапевтическим препаратам [3].

В процессе метастазирования можно выделить такие этапы, как миграция опухолевых клеток, их инвазия, интравазация и экстравазация. Миграция и инвазия опухолевых клеток становятся возможными благодаря приобретению ими подвижности, ослаблению межклеточной адгезии, полимеризации актина на ведущем крае клетки и процессу эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) клеток [4; 5]. Терапия, нацеленная на угнетение подвижности опухолевых клеток, может предотвратить или затормозить процесс метастазирования, не оказывая (или оказывая минимальное) системного токсического действия [6]. Мишенями для веществ, влияющих на подвижность опухолевых клеток, могут быть молекулы клеточной адгезии, факторы роста и их рецепторы, процесс полимеризации актина и сокращения актомиозина, различные этапы ЭМП [7-9].

Перспективной областью исследований, направленных на поиск новых веществ с антиметастатической активностью, являются вторичные метаболиты растений (ВМР). Среди ВМР можно выделить такую группу соединений, как алкалоиды, которые представлены гетероциклическими азотсодержащими соединениями, характеризующимися большим

структурным разнообразием [10]. В настоящее время уже существуют противоопухолевые препараты на основе алкалоидных соединений, одобренные FDA: винбластин и камптотецин [11]. Тем не менее поиск других алкалоидов, обладающих противоопухолевыми свойствами, продолжается. К настоящему времени было изучено значительное количество соединений *in vitro* и *in vivo*, а также выявлены основные механизмы действия алкалоидов на клетки различных типов рака, в том числе – подавление миграции и инвазии опухолевых клеток [12]. Были также выявлены антимиграционные свойства некоторых алкалоидов в отношении клеточных линий КРР [13]. В исследовании, посвященном изучению противоопухолевых свойств ВМР, выделенных из белокопытника гибридного (*Petasites hybridus* (L.) G.Gaertn., B.Mey. & Scherb.), авторами ранее была обнаружена способность нового индольного алкалоида подавлять подвижность клеток immortalized клеточной линии рака кожи A431 [14].

Цель исследования: изучить влияние нового алкалоида, выделенного из белокопытника гибридного, на подвижность клеток immortalized клеточных линий КРР.

Материалы и методы исследования

Клетки линий HT-29, HCT 116 и Caco-2 выращивали на флаконах T75 (Thermo Fisher Scientific, США) в 10 мл полной питательной среды (ППС) на основе среды DMEM с конечным содержанием FBS 10% (для Caco-2 – 20% FBS) (БиоЛот, Россия), L-глутамин 1% (Thermo Fisher Scientific, США), неосновных аминокислот 1% («БиоЛот», Россия), пенициллина-стрептомицина 1% («БиоЛот», Россия) в CO₂ инкубаторе при 37 °C с 5% содержанием CO₂.

Алкалоид выделяли из растений белокопытника гибридного *Petasites hybridus* (L.) G.Gaertn., B.Mey. & Scherb по методике, описанной авторами ранее [15]. Тестируемому веществу было присвоено рабочее название «P1».

Предварительный опыт для определения концентраций алкалоида, не оказывающих цитостатического и цитотоксического действия на клетки культур КРР, проводили следующим образом. Клетки линий HT-29, HCT 116 и Caco-2 высевали в 96-луночные планшеты в количестве 5 тыс. клеток/лунку в 100 мкл ППС. После адгезии клеток ко дну лунок планшета среду культивирования заменяли на ППС с добавлением тестируемого соединения в серии двукратных разведений от 44 до 0,34 мкмоль/л. Клетки с тестируемым веществом инкубировали в течение 24 часов в CO₂ инкубаторе, затем вносили 10 мкл/лунку смеси ядерных красителей Hoechst 33342 (1 мг/мл) (ThermoFisher, США) и этидия бромид (10 мг/мл) (Servicebio, Китай). Визуализацию результатов окрашивания осуществляли с помощью автоматизированного имиджера LionheartFX (BioTek, США), подсчет количества живых и мертвых клеток проводили с использованием программного обеспечения Gen5. Жизнеспособность клеток рассчитывали как отношение числа живых клеток в опыте с

добавлением тестируемого соединения к количеству живых клеток в контроле, выраженное в процентах. Для каждого варианта опыта было заложено по 8 повторов, эксперимент повторяли трижды.

Для теста на зарастание дефекта монослоя клетки линий НТ-29, НСТ 116 и Сасо-2 высевали в 24-луночные планшеты в количестве 50 тыс. клеток/лунку в 1 мл ППС. Клетки инкубировали в CO₂ инкубаторе при 37 °С с 5% содержанием CO₂ до достижения 80% конфлюэнтности, затем наносили вертикальный дефект на монослой клеток стерильным наконечником объемом 200 мкл. После нанесения дефекта производили замену среды культивирования: в контрольных лунках – на ППС, в опытных – на ППС с концентрациями алкалоида, подобранными на основании результатов предварительного опыта. Всего было заложено по 12 повторов для каждого варианта опыта. Опыт повторяли трижды.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение Microsoft Excel. Нормальность распределения выборки проверяли с использованием критерия Шапиро - Уилка. Статистическую значимость различий проверяли при помощи t-критерия Стьюдента. Значения параметра степени зарастания дефекта монослоя приведены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение.

Результаты исследования и их обсуждение

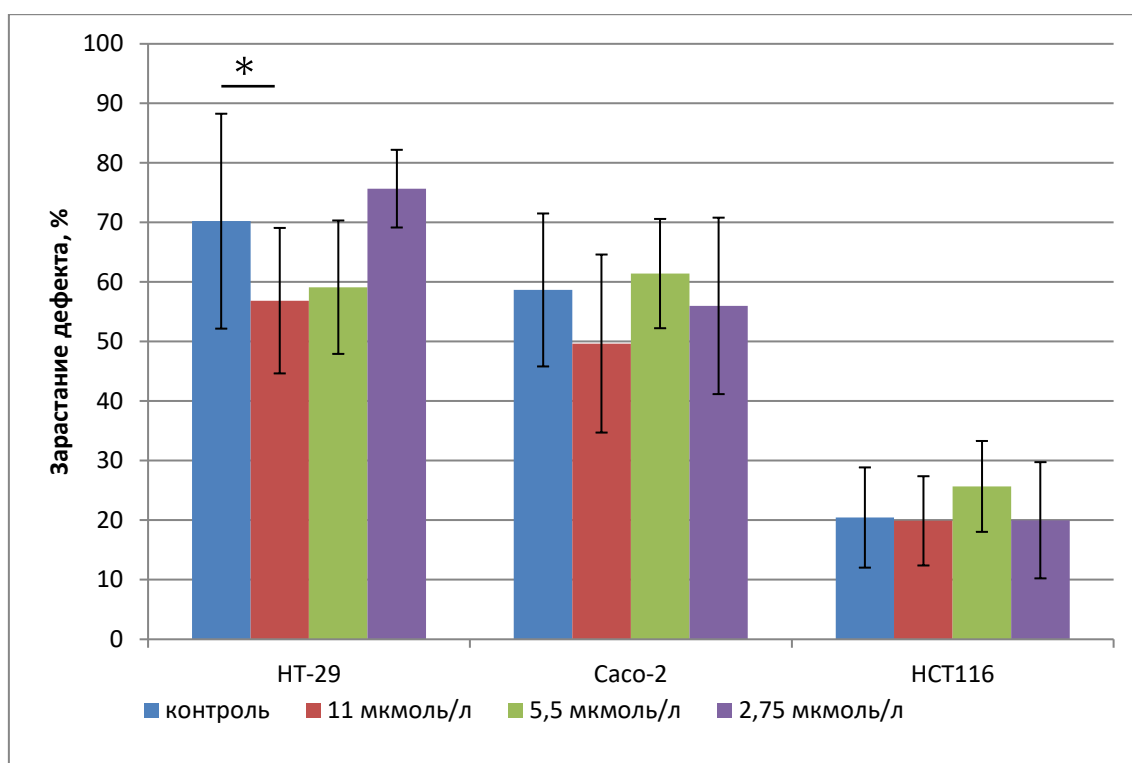
По результатам предварительного опыта было установлено, что концентрации тестируемого алкалоида P1 ниже 11 мкмоль/л не оказывают значимого влияния на жизнеспособность клеток исследуемых клеточных линий КРР (данные не приведены), поэтому данные концентрации были использованы для основного эксперимента.

В результате основного эксперимента было установлено, что клетки исследуемых линий КРР обладают различной подвижностью. Наиболее подвижными были клетки линии НТ-29 (степень зарастания дефекта в контроле равна $70,2 \pm 18\%$), а наименее подвижными – НСТ 116 ($20,45 \pm 8,4\%$). Промежуточным уровнем подвижности обладали клетки линии Сасо-2 ($58,68 \pm 12,8\%$) (рис.).

Добавление P1 оказало ингибирующее влияние на подвижность клеток только в культуре НТ-29. Инкубирование в присутствии P1 в концентрации 11 мкмоль/л вызвало статистически значимое снижение степени зарастания дефекта монослоя с $70,2 \pm 18\%$ в контроле до $56,87 \pm 12,2\%$ в опыте ($t=2,21$, $df=70$) (рис.). При добавлении тестируемого алкалоида в концентрации 5,5 мкмоль/л в культуре НТ-29 наблюдалось снижение значения степени зарастания дефекта монослоя до $59,13 \pm 12,2\%$, однако разница со значением данного параметра в контроле оказалась статистически не значимой ($t=1,81$, $df=70$). Концентрация P1 2,75 мкмоль/л уже не вызывала заметного снижения подвижности клеток культуры НТ-29 (степень зарастания дефекта равна $75,67 \pm 6,5\%$).

Несмотря на то, что в культуре Сасо-2 при добавлении тестируемого алкалоида в концентрации 11 мкмоль/л также наблюдалось снижение показателя степени зарастания дефекта монослоя с $58,68 \pm 12,8\%$ в контроле до $49,7 \pm 14,9\%$ в опыте, разница была статистически не значимой ($t=1.58$, $df=70$). При более низких концентрациях Р1 снижения степени зарастания дефекта монослоя по сравнению с контролем в культуре Сасо-2 не наблюдалось ($61,42 \pm 9,2\%$ при 5,5 мкмоль/л и $56,0 \pm 14,8\%$ при 2,75 мкмоль/л).

Наконец, в культуре НСТ 116 не было зафиксировано статистически значимых изменений в степени зарастания дефекта монослоя под действием Р1 в сравнении с контролем.



Влияние алкалоида Р1 на подвижность клеток immortalized клеточных линий KPP. Составлено авторами по результатам данного исследования.

* - разница статистически значима, $p < 0,05$.

В литературе на данный момент описаны различные алкалоиды, которые проявляют цитотоксическую и антимиграционную активность в отношении клеток KPP путем воздействия на различные сигнальные пути. Наиболее изученным алкалоидом, проявляющим такие свойства, является берберин. Существуют данные, подтверждающие его антимиграционную активность в отношении клеточных линий SW480, SW-620, НСТ-8, НСТ 116, LoVo, HT-29. В исследовании Park J.J. и соавторов было выявлено, что берберин вызывает снижение уровня интегрин $\beta 1$ и фосфорилированных Src, FAK и p130Cas через активацию АМФ-киназы в клетках линий SW-620 и НСТ116 [16]. Liu X. с соавторами провели

исследование, в результате которого было показано, что берберин снижает уровни экспрессии COX-2/PGE2, что приводит к подавлению активации сигнального пути JAK2/STAT3 и, как следствие, к снижению уровня экспрессии целевых генов MMP-2 и MMP-9, результатом чего является сниженная способность клеток линий SW-620 и LoVo к инвазии и миграции [17]. В результате экспериментов Liu Y. с соавторами было обнаружено, что берберин повышает уровень экспрессии PLZF, что приводит к убиквитинированию SCAP, результатом чего является снижение интенсивности липогенеза и, как следствие, миграционной и инвазивной способности клеток линии HCT-8 [13]. Ni L. с соавторами при помощи биоинформатических методов выявили, что берберин может значительно ингибировать экспрессию гена-концентратора HEY2, что связано с подавлением миграционной способности клеток KPP [18].

Помимо берберина, были изучены противоопухолевые и антимиграционные свойства таких алкалоидов, как EHLJ7 (производное коптизина), цикловиробуксин D (CVB-D), софокарпин, фанхинолин, винорелбин. В работе Jiang F. и соавторов противоопухолевый эффект цикловиробуксина D, а также снижение подвижности клеток линий DLD-1 и LoVo, были достигнуты преимущественно за счет ингибирования сигнального пути CTNRC1-AKT/ERK-Snail [19]. В исследовании Chai C. и соавторов было установлено, что четвертичное производное алкалоида растительного происхождения коптизина EHLJ7 снижает миграционную способность и приводит к апоптозу клеток линии HCT 116 через ингибирование сигнального пути PI3K/AKT [20]. Алкалоид софокарпин продемонстрировал антимиграционное действие в отношении клеток линий HCT 116 и SW-620, опосредованное ингибированием сигнального пути MEK/ERK/VEGF [21]. Jung Y.Y. с соавторами выявили, что алкалоид фанхинолин через ингибирование сигнальных путей c-Met/PI3K/Akt/mTOR и Wnt/ β -катенин способствовал снижению миграционной и инвазивной способности клеток линий HCT 116 и SNU-1040 [22]. В работе Liu H. и соавторов было показано, что винорелбин – полусинтетический алкалоид – оказывает влияние на процесс ЭМП путем регуляции экспрессии E-кадгерина, N-кадгерина, виментина и факторов транскрипции Snail, MMP-2 и MMP-9 в клетках линии HCT 116 [23]. Стоит отметить, что винорелбин в сочетании с другими препаратами в клинических испытаниях показал свою эффективность в отношении метастатических видов рака слюнной железы (винорелбин в сочетании с цисплатином) [24], молочной железы (винорелбин в сочетании с капецитабином) [25].

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что новый алкалоид способен подавлять подвижность клеток некоторых культур KPP. Однако ввиду сложности процесса миграции клеток, включающего в себя работу различных молекулярных механизмов, а также структурного разнообразия алкалоидных соединений и множества механизмов их противоопухолевого и антимиграционного действия, без проведения дополнительных

исследований невозможно однозначно утверждать, каким именно образом алкалоид P1 подавляет подвижность клеток линии HT-29.

Заключение

Новый алкалоид P1 снижает подвижность клеток линии HT-29. В рамках проведенного авторами исследования невозможно сделать вывод о механизме действия P1, в связи с чем требуется дальнейшее его изучение с применением более широкого арсенала молекулярно-генетических и биоинформатических методов.

Список литературы

1. Rumpold H., Niedersüß-Beke D., Heiler C., Falch D., Wundsam H.V., Metz-Gercek S., Piringer G., Thaler J. Prediction of mortality in metastatic colorectal cancer in a real-life population: a multicenter explorative analysis // BMC Cancer. 2020. Vol. 20. Is. 1. P. 1149. DOI: 10.1186/s12885-020-07656-w.
2. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Колесников В.Е., Бондаренко О.К., Дашков А.В. Современные хирургические стратегии лечения метастатического колоректального рака (обзор литературы) // Южно-Российский онкологический журнал. 2024. Т. 5 (3). С. 102-110. URL: <https://www.cancersp.com/jour/article/view/250/295> (дата обращения: 25.05.2025). DOI: 10.37748/2686-9039-2024-5-3-9.
3. Shin A.E., Giancotti F.G., Rustgi A.K. Metastatic colorectal cancer: mechanisms and emerging therapeutics // Trends Pharmacol Sci. 2023. Vol. 44. Is. 4. P. 222-236. DOI: 10.1016/j.tips.2023.01.003.
4. Chen M.H., Gu Y.Y., Zhang A.L., Sze D.M., Mo S.L., May B.H. Biological effects and mechanisms of matrine and other constituents of *Sophora flavescens* in colorectal cancer // Pharmacol Res. 2021 Vol. 171. P. 105778. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105778.
5. Bakir B., Chiarella A.M., Pitarresi J.R., Rustgi A.K. EMT, MET, Plasticity, and Tumor Metastasis // Trends Cell Biol. 2020. Vol. 30. Is. 10. P. 764-776. DOI: 10.1016/j.tcb.2020.07.003.
6. Palmer T.D., Ashby W.J., Lewis J.D., Zijlstra A. Targeting tumor cell motility to prevent metastasis // Adv Drug Deliv Rev. 2011. Vol. 63. Is. 8. P. 568-581. DOI: 10.1016/j.addr.2011.04.008.
7. Janiszewska M., Primi M.C., Izard T. Cell adhesion in cancer: Beyond the migration of single cells // J. Biol Chem. 2020 Vol. 295. Is. 8. P. 2495-2505. DOI: 10.1074/jbc.REV119.007759.
8. Wells A., Grahovac J., Wheeler S., Ma B., Lauffenburger D. Targeting tumor cell motility as a strategy against invasion and metastasis // Trends Pharmacol Sci. 2013. Vol. 34. Is. 5. P. 283-289. DOI: 10.1016/j.tips.2013.03.001.

9. Olson M.F., Sahai E. The actin cytoskeleton in cancer cell motility // Clin Exp Metastasis. 2009. Vol. 26. Is. 4. P. 273-287. DOI: 10.1007/s10585-008-9174-2.
10. Seca A.M.L., Pinto D.C.G.A. Plant Secondary Metabolites as Anticancer Agents: Successes in Clinical Trials and Therapeutic Application // Int. J. Mol. Sci. 2018. Vol. 19. Is. 1. P. 263. DOI: 10.3390/ijms19010263.
11. Fakhri S., Moradi S.Z., Farzaei M.H., Bishayee A. Modulation of dysregulated cancer metabolism by plant secondary metabolites: A mechanistic review // Semin Cancer Biol. 2022. Vol. 80. P. 276-305. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.02.007.
12. Kim S., Lee J., You D., Jeong Y., Jeon M., Yu J., Kim S.W., Nam S.J., Lee J.E. Berberine Suppresses Cell Motility Through Downregulation of TGF- β 1 in Triple Negative Breast Cancer Cells // Cell Physiol Biochem. 2018. Vol. 45. Is. 2. P. 795-807. DOI: 10.1159/000487171.
13. Liu Y., Fang X., Li Y., Bing L., Li Y., Fang J., Xian X., Zhang W., Li J., Zhao Z., Zhu Y. Berberine suppresses the migration and invasion of colon cancer cells by inhibition of lipogenesis through modulation of promyelocytic leukemia zinc finger-mediated sterol-regulatory element binding proteins cleavage-activating protein ubiquitination // J. Pharm Pharmacol. 2022. Vol. 74. Is. 9. P. 1353-1363. DOI: 10.1093/jpp/rgac026.
14. Филиппова С.Ю., Шамова Т.В., Тимофеева С.В., Ситковская А.О., Межевова И.В., Гненная Н.В., Новикова И.А., Енин Я.С., Буров О.Н., Златник Е.Ю., Мезенцев С.С., Черникова Е.Н., Пандова О.В., Позднякова В.В., Ежова М.О., Бакулина С.М., Хохлова О.В. влияние некоторых метаболитов из растений рода *petasites* sp. на подвижность опухолевых клеток *in vitro* // Гены и клетки. 2022. Т. 17. № 2. С. 60-63. URL: <https://genescells.ru/2313-1829/article/view/133721> DOI: 10.23868/202209009 (дата обращения: 25.05.2025).
15. Златник Е.Ю., Енин Я.С., Буров О.Н., Бондаренко Е.С., Сагакянц А.Б., Кутилин Д.С., Дзигунова Ю.В., Ишонина О.Г., Шалашная Е.В., Ушакова Н.Д. Молекулярные аспекты воздействия вторичных метаболитов Барбариса обыкновенного и Белокопытника гибридного на клеточную линию HeLa // Исследования и практика в медицине. 2023. Т. 10. № 4. С. 31-47. URL: <https://www.rpmj.ru/rpmj/article/view/928/600> (дата обращения: 25.05.2025). DOI: 10.17709/2410-1893-2023-10-4-3. EDN: WNOCXO.
16. Park J.J., Seo S.M., Kim E.J., Lee Y.J., Ko Y.G., Ha J., Lee M. Berberine inhibits human colon cancer cell migration via AMP-activated protein kinase-mediated downregulation of integrin β 1 signaling // Biochem Biophys Res Commun. 2012. Vol. 426. Is. 4. P. 461-467. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.08.091.
17. Liu X., Ji Q., Ye N., Sui H., Zhou L., Zhu H., Fan Z., Cai J., Li Q. Berberine Inhibits Invasion and Metastasis of Colorectal Cancer Cells via COX-2/PGE2 Mediated JAK2/STAT3 Signaling Pathway // PLoS One. 2015. Vol. 10. Is. 5. P. e0123478. DOI: 10.1371/journal.pone.0123478.

18. Ni L., Sun P., Ai M., Kong L., Xu R., Li J. Berberine inhibited the formation of metastasis by intervening the secondary homing of colorectal cancer cells in the blood circulation to the lung and liver through HEY2 // *Phytomedicine*. 2022. Vol. 104. P. 154303. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154303.
19. Jiang F., Chen Y., Ren S., Li Z., Sun K., Xing Y., Zhu Y., Piao D. Cyclovirobuxine D inhibits colorectal cancer tumorigenesis via the CTHRC1-AKT/ERK-Snail signaling pathway // *Int. J. Oncol.* 2020. Vol. 57. Is. 1. P. 183-196. DOI: 10.3892/ijo.2020.5038.
20. Chai C., Tang X., Chi X., Li X., Zhang H., Wu L. Therapeutic effects of coptisine derivative EHLJ7 on colorectal cancer by inhibiting PI3K/AKT pathway // *Cell Signal*. 2024. Vol. 116. P. 111053. DOI: 10.1016/j.cellsig.2024.111053.
21. Wang Q., Wang T., Zhu L., He N., Duan C., Deng W., Zhang H., Zhang X. Sophocarpine Inhibits Tumorigenesis of Colorectal Cancer via Downregulation of MEK/ERK/VEGF Pathway. *Biol Pharm Bull*. 2019. Vol. 42. Is. 11. P. 1830-1838. DOI: 10.1248/bpb.b19-00353.
22. Jung Y.Y., Chinnathambi A., Alahmadi T.A., Alharbi S.A., Kumar A.P., Sethi G., Ahn K.S. Fangchinoline targets epithelial-mesenchymal transition process by modulating activation of multiple cell-signaling pathways // *J. Cell. Biochem*. 2022. Vol. 123. Is. 7. P. 1222-1236. DOI: 10.1002/jcb.30279.
23. Liu H., Fu Q., Lu Y., Zhang W., Yu P., Liu Z., Sun X. Anti-tubulin agent vinorelbine inhibits metastasis of cancer cells by regulating epithelial-mesenchymal transition // *Eur. J. Med Chem*. 2020. Vol. 200. P. 112332. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112332.
24. Hong M.H., Kim C.G., Koh Y.W., Choi E.C., Kim J., Yoon S.O., Kim H.R., Cho B.C. Efficacy and safety of vinorelbine plus cisplatin chemotherapy for patients with recurrent and/or metastatic salivary gland cancer of the head and neck // *Head Neck*. 2018. Vol. 40. Is. 1. P. 55-62. DOI: 10.1002/hed.24933.
25. Torres A., Ramdial J.L., Aguirre L.E., Mahtani R., Vogel C.L. Vinorelbine plus Capecitabine (Vinocap): a retrospective analysis in heavily pretreated HER2 negative metastatic breast cancer patients // *Breast Cancer Res Treat*. 2019. Vol. 176. Is. 2. P. 253-260. DOI: 10.1007/s10549-019-05203-1.