

ISSN 1561-8323 (Print)  
ISSN 2524-2431 (Online)  
УДК 577.152.1 547.92

Поступило в редакцию 11.12.2017  
Received 11.12.2017

**О. В. Панибрат, П. С. Шабуня, С. А. Фатыхова,  
член-корреспондент В. Н. Жабинский, П. А. Киселев**

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **АНТИКАНЦЕРОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ БРАССИНОСТЕРОИДОВ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ КАРЦИНОМЫ ПЕЧЕНИ**

**Аннотация.** Впервые охарактеризовано влияние природных brassinosteroidов 24-эпибрасинолида (24-ЭБ) и 28-гомокастастерона (28-ГКС), а также синтетических аналогов (22*S*,23*S*)-24-эпибрасинолида и (22*S*,23*S*)-28-гомокастастерона на пролиферацию активности в раковой клеточной линии **Hep G2 (карцинома печени)**, а также на каталитическую активность цитохрома P450, который участвует в метаболизме большинства проканцерогенов. Все четыре соединения при высоких концентрациях были активными в подавлении клеточной пролиферации исследуемой линии. Интересным является и тот факт, что при низких концентрациях 24-ЭБ, (22*S*,23*S*)-24-ЭБ и (22*S*,23*S*)-28-ГКС достоверно активировали рост клеток Hep G2. Все исследуемые brassinosteroidы ингибировали активность CYP1A1 и CYP1B1, за исключением 28-ГКС. Оказываемый эффект зависел от структуры боковой цепи и был более выражен в случае SS-ориентации гидроксильных групп в положении C22 и C23 ((22*S*,23*S*)-28-гомокастастерон). Полученные результаты указывают на возможность использования исследуемых brassinosteroidов (в наибольшей степени (22*S*,23*S*)-28-ГКС) для создания более эффективных препаратов для профилактики и лечения опухолевых заболеваний.

**Ключевые слова:** brassinosteroidы, **Hep G2**, антипролиферативная активность, B[a]P-7,8-диол, индукция цитохрома P450, монооксигеназная активность

**Для цитирования:** Антиканцерогенная активность brassinosteroidов в опухолевых клетках карциномы печени / О. В. Панибрат [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 1. – С. 66–72.

**Olesya V. Panibrat, Polina S. Shabunya, Sviatlana A. Fatykhava,  
Corresponding Member Vladimir N. Zhabinskii, Peter A. Kiselev**

*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

## **ANTICANCEROGENIC ACTIVITY OF BRASSINOSTEROIDS IN LIVER TUMOR CELLS**

**Abstract.** In this study, we first characterized the effect of natural brassinosteroids, 24-epibrassinolide (EBI) and 28-homocastasterone (HCS), and synthetic analogs, (22*S*,23*S*)-24-epibrassinolide and (22*S*,23*S*)-28-homocastasterone, on the growth of the cancer cell line Hep G2 (hepatocellular carcinoma), as well as on the catalytic activity of cytochrome P450, which participates in the metabolism of most procarcinogens. All four compounds at high concentrations suppressed the proliferation of the test cell line. It is also interesting that at low concentrations, 24-EBI, (22*S*,23*S*)-24-EBI and (22*S*,23*S*)-28-HCS activated significantly the Hep G2 cell growth. All studied brassinosteroids, except for 28-HCS, inhibited the activity of CYP1A1 and CYP1B1. The effect depended on the structure of the side chain and was more pronounced in the case of the SS orientation of the hydroxyl groups at the positions C22 and C23 ((22*S*,23*S*)-28-homocastasterone).

The results of this work suggest that the studied brassinosteroids (especially (22*S*,23*S*)-28-homocastasterone) can be used to create effective drugs for tumor prevention and treatment

**Keywords:** brassinosteroids, Hep G2, antiproliferative activity, B[a]P-7,8-diol, induction of cytochrome P450, monooxygenase activity

**For citation:** Panibrat O. V., Shabunya P. S., Fatykhava S. A., Zhabinskii V. N., Kiselev P. A. Anticancerogenic activity of brassinosteroids in liver tumor cells. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 1, pp. 66–72 (in Russian).

**Введение.** Brassinosteroidы (БС) представляют собой группу фитогормонов, которые широко распространены как в высших, так и в низших растениях и способны влиять на различные физиологические процессы. БС стимулируют рост, отвечают за устойчивость к стрессовым факторам, в том числе болезням, участвуют в процессах клеточного сигналинга и т. д. Хотя БС встречаются практически у всех растений, их содержание весьма низкое (менее  $10^{-7}$  г/г сырой массы). Это свидетельствует о том, что для проявления активности необходимы очень малень-

кие концентрации гормонов. Об активности БС у растений в настоящее время известно достаточно много [1]. Напротив, их действие в отношении организма млекопитающих, отдельные представители которых, в том числе и человек, потребляют растения с пищей, изучено относительно слабо. За последнее десятилетие в ряде работ была продемонстрирована способность БС подавлять пролиферацию раковых клеток [2–4]. В то же время было показано, что БС не влияют на деление нормальных клеток [2]. Механизм их антипролиферативного действия связывают с остановкой клеточного цикла в результате изменения уровня циклин-зависимых киназ, что в дальнейшем приводит к апоптозу [3].

Известно также, что ферменты суперсемейства цитохрома Р450, в частности СYP1A1 и СYP1B1, участвуют в активации ряда соединений с проканцерогенной активностью, например, полиароматических углеводородов. К этим соединениям относится и классический ксенобиотик Б[а]П (бенз(а)пирен) (1), окисление которого цитохромами Р450 приводит к образованию смеси (±)-Б[а]П-7,8-диол эпоксидов ДЭ2 и ДЭ1, первый из которых является канцерогенным, а другой не оказывает отрицательного воздействия [5] (рис. 1).

Каталитическая активность изоформ цитохромов Р450 является высокочувствительной к разного рода воздействиям, например, такому явлению, как субстратная индукция [6]. Последняя представляет собой процесс, при котором увеличивается экспрессия генов фермента под воздействием субстрата, окисление которого катализирует этот фермент. Это в свою очередь может привести к наработке большого количества нежелательных генотоксичных продуктов при метаболизме проканцерогенов цитохромами Р450 [7]. Напротив, ингибирование каталитической активности данных ферментов снижает вероятность образования ДНК-аддуктов метаболитов Б[а]П.

Ранее были проведены работы по исследованию способности брассиностероидов ингибировать каталитическую активность цитохромов Р450 микросомальной фракции, выделенной из клеток линии MCF-7 (карцинома молочной железы человека) и печени крыс. Ярко выраженное ингибирование окисления Б[а]П БС наблюдалось для (22*S*,23*S*)-гомобрассинолида и (22*S*,23*S*)-гомокастастерона, причем характерно, что соединения именно такой структуры обладают наибольшей цитотоксичностью в отношении ряда опухолевых клеток [8]. Очевидно, что обнаружение взаимосвязи между противоопухолевым действием БС и их способностью ингибировать активность цитохромов может оказаться весьма полезным для поиска потенциальных противоопухолевых агентов среди БС и их аналогов, а путь к реализации такой возможности лежит через анализ результатов, полученных с применением новых клеточных моделей и новых структурных типов БС.

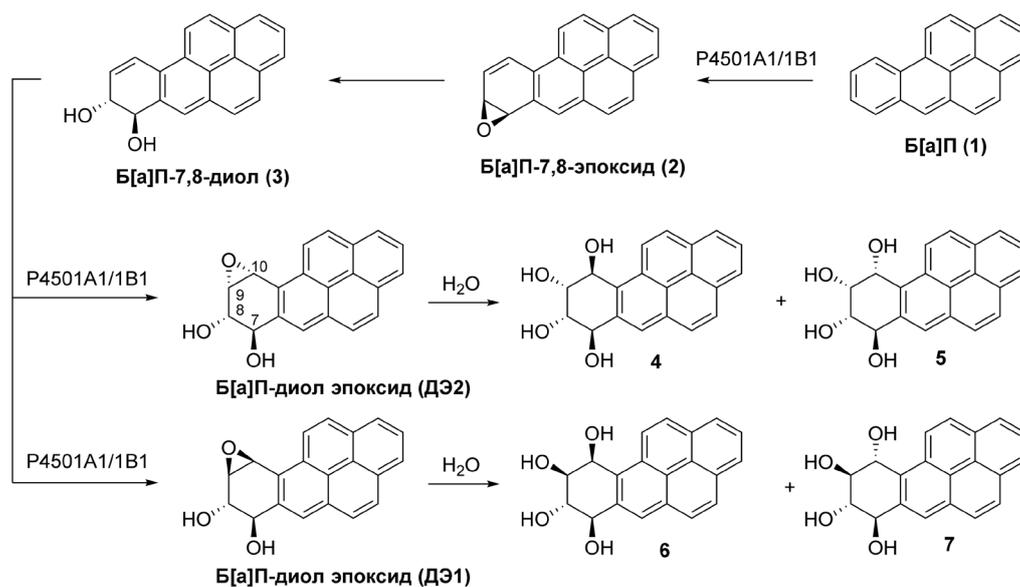


Рис. 1. Метаболизм Б[а]П СYP1A1/1B1 и его основные метаболиты

Fig. 1. Metabolism B[a]P by CYP1A1/1B1 and its major metabolites

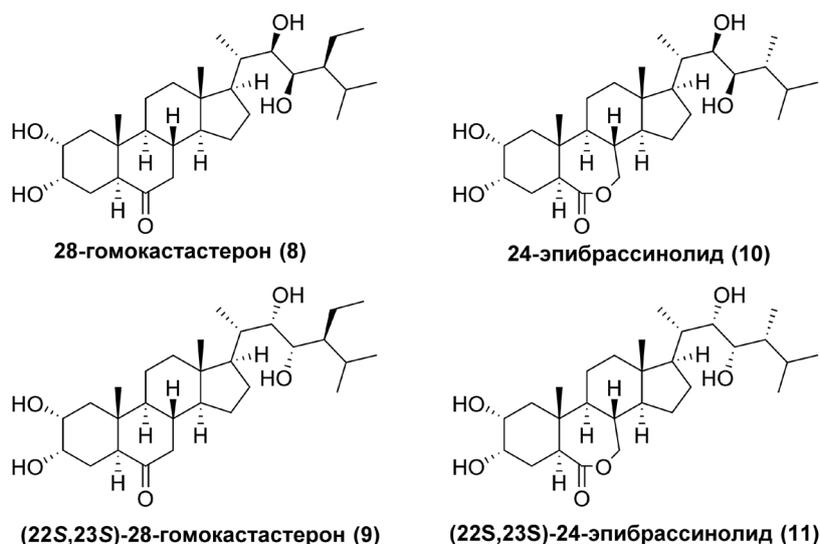


Рис. 2. Структура исследованных соединений

Fig. 2. Structure of the investigated compounds

В данной работе оценена антипролиферативная активность природных БС **8** и **10** и их синтетических аналогов **9** и **11** в отношении ранее не изучавшейся раковой клеточной линии Hep G2 (карцинома печени) (рис. 2).

Показано влияние данных соединений на каталитическую активность цитохромов P450, участвующих в метаболизме Б[а]П (**1**) и на образование канцерогенного метаболита Б[а]П – диол эпоксида ДЭ2 в этой линии клеток.

**Материалы и методы исследования. Соединения.** В работе использовали 28-гомокастастерон (28-ГКС) (**8**), (22S,23S)-28-гомокастастерон ((22S,23S)-28-ГКС) (**9**), 24-эпибрассинолид (24-ЭБ) (**10**) и (22S,23S)-24-эпибрассинолид ((22S,23S)-24-ЭБ) (**11**), синтезированные в лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси. (±)-Транс-В[а]P-7,8-диол (**3**) любезно предоставлен NCI Chemical Carcinogen Repository, Midwest Research Institute (Kansas City, MO).

**Культивирование клеточной культуры.** Применяли монослойную клеточную культуру Hep G2. Культивирование линии Hep G2 проводили в среде EMEM (Sigma, США), при 37 °C во влажной атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub>. Среда содержала 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США), 4 мМ L-глутамина, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, а также антимикотик амфотерицин В (25 мкг/мл) (Invitrogen, США). Клеточную культуру поддерживали на стадии логарифмического роста путем рутинной пересадки дважды в неделю. Контроль адгезии клеток на подложке, роста и возможной контаминации производили визуально с помощью инвертированного микроскопа AU-12 (ЛОМО, Россия).

**Характеристика антипролиферативной активности в отношении линии Hep G2.** Для определения антипролиферативной активности использовали МТТ-тест [9]. Клетки Hep G2 помещали на 96-луночный планшет (Sarstedt, Германия) в концентрации 1 · 10<sup>4</sup> клеток/луночку и инкубировали в среде EMEM (Sigma, США), с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США) и антибиотиков – пенициллина (100 ед/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) и антимикотика амфотерицина В (25 мкг/мл) (Invitrogen, США). Через 24 ч инкубирования при 37 °C во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO<sub>2</sub>, среду сливали и заменяли ее на среду, содержащую брассиностероиды в концентрациях от 1 до 100 мкМ. Контрольные клетки инкубировали в среде с 1 % ДМСО (диметилсульфоксид). Через 72 ч в среду добавляли соль – 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (Carl Roth, США) в концентрации 5 мг/мл. Через 4 ч экспозиции при 37 °C темно-фиолетовые гранулы формазана растворяли в ДМСО. Количество восстановленного продукта измеряли фотометрически при длине волны

570 нм на планшетном анализаторе АИФ-М/340. Пролиферативную активность клеток в присутствии исследуемого соединения рассчитывали по формуле: ОП опытных лунок / ОП контр. лунок · 100 %, где ОП – оптическая плотность.

*Индукция монооксигеназной активности в клеточной линии Hep G2.* Для индукции использовали раствор ТХДД (2,3,7,8-тетрахлордibenзо-*пара*-диоксин) в ДМСО (концентрация маточного раствора – 10 мкМ). При 70–80 %-ной конfluентности образца питательную среду во флаконе меняли на свежую, с предварительно растворенным в ней ТХДД (конечная концентрация индуктора составляла 10 нМ, объем растворителя не превышал 0,1 % от общего объема). Экспонирование длилось 24 ч.

*Определение каталитической активности цитохрома P450 в клеточной культуре по отношению к B[a]П-7,8-диолу (3).* Ферментативную реакцию проводили в культуральном флаконе, в котором находилось  $3 \cdot 10^6$  клеток в логарифмической фазе роста в 1 мл 5 мМ КФБ (калий-фосфатный буфер), содержащего B[a]П-7,8-диол (3). Конечная концентрация субстрата составляла 10,0 мкМ (объем растворителя – ДМСО не превышал 0,1 % от общего объема). Реакцию начинали добавлением 1,0 мМ НАДФН и проводили в течение 2 ч. Далее реакционную смесь отбирали, вносили 2 мл этилацетата и экстрагировали смесь в течение 1 мин с использованием встряхивателя Micro-Shaker-326m (Польша). Органическую фазу отбирали. Экстракцию проводили дважды, затем этилацетат выпаривали. Продукты экстракции растворяли в 500 мкл метанола.

*ВЭЖХ-анализ продуктов биотрансформации B[a]П-7,8-диола (3).* Хроматографический анализ проводился на жидкостном хроматографе Agilent 1200 с флуоресцентным детектором FLD G1321A. Была использована колонка Agilent Zorbax Eclipse C18 длиной 150 мм, диаметром 2,1 мм, размер зерна – 1,8 мкм. Разделение компонентов проб проводили при следующих условиях: температура колонки +40 °С; скорость потока 0,4 мл/мин; объем инъекции 1 мкл; детектирование при длинах волн возбуждения 344 нм и испускания 398 нм; подвижная фаза А – деионизованная вода; подвижная фаза В – метанол. Был использован градиентный режим элюирования с изменением состава подвижной фазы от 40 до 47,3 % фазы В за 19 мин, затем до 60 % фазы В за 1 мин и с последующей изократической элюцией при 60 % фазы В в течение следующих 20 мин. Общее время анализа – 45 мин. Время удержания (6) составило  $20,41 \pm 0,07$  мин, (7) –  $23,87 \pm 0,27$  мин, (4) –  $24,7 \pm 0,24$  мин, (5) –  $26,43 \pm 0,6$  мин. Субстрат (рацемическая смесь) детектировали на  $40,74 \pm 0,23$  мин.

Определение содержания (в %) продуктов реакции осуществляли на базе калибровки, построенной по стандартным образцам тетрагидрокси производных B[a]П. Содержание ( $\pm$ )7 $\beta$ ,8 $\alpha$ -дигидрокси-9 $\beta$ ,10 $\beta$ -эпокси-7,8,9,10-тетрагидро-бензо[a]пирена (ДЭ1) рассчитывали как сумму концентраций ( $\pm$ )7 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,9 $\beta$ ,10 $\beta$ -тетрагидрокси-7,8,9,10-тетрагидробензо[a]пирена (6) и ( $\pm$ )7 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,9 $\beta$ ,10 $\alpha$ -тетрагидрокси-7,8,9,10-тетрагидро-бензо[a]пирена (7). Для ( $\pm$ )7 $\beta$ ,8 $\alpha$ -дигидрокси-9 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -эпокси-7,8,9,10-тетрагидро-бензо[a]пирена (ДЭ2) характеристичными тетролами были ( $\pm$ )7 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ ,10 $\beta$ -тетрагидрокси-7,8,9,10-тетрагидробензо[a]пирен (4) и ( $\pm$ )7 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -тетрагидрокси-7,8,9,10-тетрагидро-бензо[a]пирен (5).

**Результаты и их обсуждение.** Поиск соединений с антиканцерогенной активностью и выяснение механизма их действия базируются на предварительной оценке влияния исследуемых веществ на свойства культур опухолевых клеток. В случае природных БС и некоторых синтетических аналогов показана их антипролиферативная активность в отношении ряда раковых клеток [2–4; 10]. При этом, исходя из близости структур и функций стероидных регуляторов в растительных и животных системах, в первую очередь речь идет об андроген- и эстроген-зависимых клеточных линиях. Меньше известно о взаимосвязи между структурой соединений и их влиянием на поведение гормон-независимых органов и тканей.

Одна из задач настоящей работы – оценка воздействия природных БС и их синтетических аналогов на пролиферацию гормон-независимой опухолевой клеточной линии Hep G2 (карцинома печени). Для этого использован ставший уже классическим МТТ-тест. Как видно из рис. 3, все исследованные соединения показали достоверную антипролиферативную активность в отношении исследуемой линии клеток при высоких концентрациях. Так IC<sub>50</sub> для (22S,23S)-28-ГКС (9) составило 50 мкМ, для 28-гомокастестерона (8) и (22S,23S)-24-ЭБ (11) 100 мкМ. 24-эпибрас-

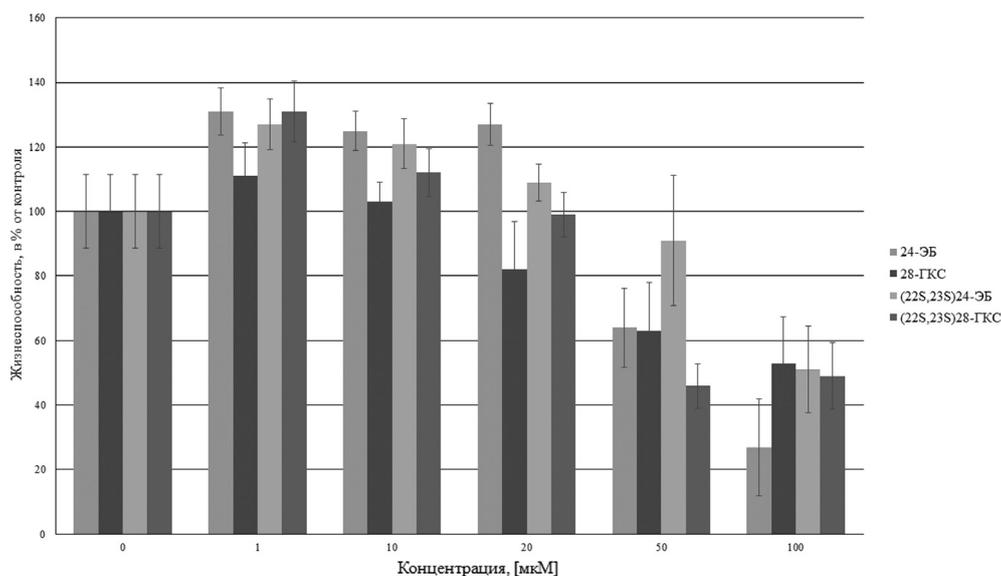


Рис. 3. Пролиферация раковых клеток линии Hep G2 под действием БС  
 Fig. 3. Proliferation of Hep G2 cell cancer cells treated with brassinosteroids

синолид (**10**) при 100 мкМ ингибировал жизнеспособность клеток на 80 %. Следует отметить, что ранее было показано выраженное ингибирующее действие (22S,23S)-28-ГКС (**9**) в сравнимых концентрациях на жизнеспособность других опухолевых клеток: карциномы легкого (линия A549), лейкемии (линия СЕМ) и миеломы (линия RPMI 8226) [2; 4].

Необходимо особо подчеркнуть, что при низких концентрациях соединений (**9**)–(**11**) нами впервые наблюдалась достоверная активация роста клеток. Как видно на рис. 3, для большинства изученных веществ значения стимулирующих концентраций лежат в диапазоне 1–10 мкМ, а для отдельных соединений этот интервал еще более широк (до 20 мкМ). Сходное действие наблюдалось у эпибрасинолида и гомобрасинолида в отношении гриба *Phytophthora infestans*. В концентрациях  $10^{-8}$ – $10^{-16}$  М они стимулировали рост мицелия гриба и образование спор, в то время как при концентрации  $10^{-5}$  М, эпибрасинолид вызывал лизис зооспор [1].

Известно, что в метаболизме Б[а]П (**1**) участвуют ферменты трех классов: цитохромы P450, пероксидазы и альдокеторедуктазы [11]. Для того чтобы анализировать влияние исследуемых БС на метаболизм Б[а]П (**1**) цитохромами CYP1A1 и CYP1B1, их активность была индуцирована ТХДД в течение суток. Было показано, что в культуре Hep G2 каталитическая активность цитохромов индуцибельна. Так, при индукции ТХДД активность цитохромов P450 возрастала в 6,7 раза, что видно из соотношения продукт/субстрат в таблице. В индуцированных клетках линии Hep G2 образовывалось в 2,5 раза больше диол эпоксида ДЭ2 по сравнению с контрольными клетками.

При совместном инкубировании клеток с ТХДД в концентрации 10 нМ и исследуемых БС в течение суток наблюдалось различное их влияние как на степень индукции, так и на количество образующегося диол эпоксида ДЭ2. В клетках Hep G2 под действием (22S,23S)-28-ГКС (**9**) соотношение ДЭ2/суммарный продукт реакции снижалось приблизительно в 2 раза и было сопоставимо с таковым контрольных клеток.

Что касается степени индукции активности CYP450, то синтетические БС значительно снижали ее: (22S,23S)-24-ЭБ (**11**) – в 9 раз, (22S,23S)-28-ГКС (**9**) – в 30 раз, что в 4,5 раза меньше, чем активность цитохромов P450 в интактных клетках. Природный 24-ЭБ (**10**) снижал индукцию в 5 раз, в то время как 28-ГКС (**8**) повышал ее в 2 раза.

Из полученных результатов следует, что сочетанное действие ксенобиотиков на организм может стимулировать образование канцерогенного диол эпоксида ДЭ2 в тканях печени, что в свою очередь увеличивает риск развития опухоли. Подобный эффект был показан нами ранее на клеточной линии A549, где 20-метилхолантрен также направлял метаболизм Б[а]П в сторону образования диол эпоксида ДЭ2.

**Влияние БС на образование генотоксичного продукта ДЭ2 в результате катализируемого цитохромом P450 окисления В[а]П-7,8-диола (3) в клетках Нер G2**

**Influence of brassinosteroids on generation of genotoxic product diol epoxide 2 (DE2) as a result of В[а]P-7,8-diol oxidation by cytochrome P450 in Hep G2 cells**

Показатель Index	Контроль Control	Индукция ТХДД (10 нМ) Induction with TCDD (10 nM)	Индукция ТХДД+24-ЭБ (50 мкМ) Induction with TCDD +24-EBI (50 μM)	Индукция ТХДД+28-ГКС (50 мкМ) Induction with TCDD +28-HCS (50 μM)	Индукция ТХДД+(22S,23S)-24-ЭБ (50 мкМ) Induction with TCDD+(22S,23S)-24-EBI (50 μM)	Индукция ТХДД+(22S,23S)-28-ГКС (50 мкМ) Induction with TCDD+(22S,23S)-28-HCS (50 μM)
ДЭ2	22 %*	61 %	47 %	63 %	52 %	22 %
Суммарный продукт реакции	88 %	98 %	91 %	99 %	84 %	62 %
В[а]P-7,8-диол (3) (субстрат)	12 %	2 %	9 %	1 %	16 %	38 %
ДЭ2/продукт	0,25	0,62	0,52	0,64	0,62	0,35
Продукт/субстрат	7,33	49	10,11	99	5,25	1,63

Примечание: \* – % от общей площади пиков на хроматограмме.

Note: \* – % of total peak area on the chromatogram.

Так как цитохромы P450 являются основными ферментами, трансформирующими проканцерогены, а их каталитическая активность очень чувствительна к экзогенным влияниям, в настоящее время активно ведется поиск ингибиторов цитохромов P450. В [12; 13] на клетках линии MCF-7 была показана ингибирующая активность веществ растительного происхождения – флавоноидов, в частности кверцетина, кемпферола, мирицитина и апигенина в отношении CYP1A1 и CYP1B1, метаболизирующих В[а]П (1).

Все исследуемые в данной работе БС (за исключением 28-ГКС (8)) также ингибировали активность CYP1A1 и CYP1B1. Самым эффективным оказался (22S,23S)-28-ГКС (9). Кроме того, наблюдалась взаимосвязь между ингибированием активности цитохрома P450 БС и ингибированием роста опухолевых клеток линии Нер G2.

Известно, что повышенная экспрессия отдельных изоформ цитохромов в опухолях может снижать эффективность химиотерапии рака [14]. В этом плане исследованные БС (в наибольшей степени (22S,23S)-28-ГКС (9)) могут стать основой для создания более эффективных препаратов для профилактики и лечения опухолевых заболеваний.

### Список использованных источников

1. Khripach, V. A. Brassinosteroids. A new class of plant hormones / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. de Groot. – San Diego: Academic Press, 1999. – 456 p.
2. Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids / J. Malíková [et al.] // *Phytochemistry*. – 2008. – Vol. 69, N 2. – P. 418–426. doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.028
3. Hoffmannová, L. Anticancer Activities of Brassinosteroids / L. Hoffmannová, J. Steigerová, M. Strnad // *Brassinosteroids: Practical Applications in Agriculture and Human Health*. – Bentham Science Publishers, 2012. – P. 84–93. doi.org/10.2174/978160805298111201010084
4. Flow-cytometric analysis of reactive oxygen species in cancer cells under treatment with brassinosteroids / P. A. Kisselev [et al.] // *Steroids*. – 2017. – Vol. 117. – P. 11–15. doi.org/10.1016/j.steroids.2016.06.010
5. Differential metabolism of benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol by human CYP1A1 variants / D. Schwarz [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2001. – Vol. 22 (3). – P. 453–459. doi.org/10.1093/carcin/22.3.453
6. Tompkins, L. M. Mechanisms of cytochrome P450 induction / L. M. Tompkins, A. D. Wallace // *J. Biochem. Molecular Toxicology*. – 2007. – Vol. 21 (4). – P. 176–181. doi.org/10.1002/jbt.20180
7. Ляхович, В. В. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков / В. В. Ляхович, В. В. Цырлов. – Новосибирск: Наука, 1981. – 240 с.
8. Влияние структуры боковой цепи брассиностеридов на монооксигеназную активность микросом клеток печени / А. Г. Сыса [и др.] // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2010. – Т. 46, № 1. – С. 29–34.
9. Van Meerloo, J. Cell sensitivity assays: the MTT assay / J. van Meerloo, G. J. Kaspers, J. Cloos // *Methods Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 731. – P. 237–245. doi.org/10.1007/978-1-61779-080-5\_20
10. Zhabinskii, V. N. Steroid plant hormones: Effects outside plant kingdom / V. N. Zhabinskii, N. B. Khripach, V. A. Khripach // *Steroids*. – 2015. – Vol. 97. – P. 87–97. doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.025

11. The Role of Human Aldo-Keto Reductases in the Metabolic Activation and Detoxication of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Interconversion of PAH Catechols and PAH o-Quinones / Li Zhang [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 1–12. doi.org/10.3389/fphar.2012.00193
12. Chaudhary, A. Inhibition of human cytochrome CYP 1 enzymes by flavonoids of St. John's wort / A. Chaudhary, K. L. Willett // *Toxicology.* – 2006. – Vol. 217 (2–3). – P. 194–205. doi.org/10.1016/j.tox.2005.09.010
13. Inhibition of 17 $\beta$ -estradiol activation by CYP1A1: Genotype- and regioselective inhibition by St. John's Wort and several natural polyphenols / D. Schwarz [et al.] // *BBA-Proteins and Proteomics.* – 2011. – Vol. 1814 (1). – P. 168–174. doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.09.014
14. Zanger, U. M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation / U. M. Zanger, M. Schwab // *Pharmacol. Ther.* – 2013. – Vol. 138 (1). – P. 103–141. doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.12.007

### References

1. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., de Groot Ae. *Brassinosteroids. A new class of plant hormones.* San Diego: Academic Press, 1999. 456 p.
2. Malíková J., Swaczynová J., Kolár Z., Strnad M. Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids. *Phytochemistry*, 2008, vol. 69, no. 2, pp. 418–426. doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.028
3. Hoffmannová L., Steigerová J., Strnad M. Anticancer Activities of Brassinosteroids. *Brassinosteroids: Practical Applications in Agriculture and Human Health.* Bentham, Science Publishers, 2012, pp. 84–93. doi.org/10.2174/978160805298111201010084
4. Kisselev P. A., Panibrat O. V., Sysa A. R., Anisovich M. V., Zhabinskii V. N., Khripach V. A. Flow-cytometric analysis of reactive oxygen species in cancer cells under treatment with brassinosteroids. *Steroids*, 2017, vol. 117, pp. 11–15. doi.org/10.1016/j.steroids.2016.06.010
5. Schwarz D., Kisselev P., Cascorbi I., Schunck W. H., Roots I. Differential metabolism of benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol by human CYP1A1 variants. *Carcinogenesis*, 2001, vol. 22, no. 3, pp. 453–459. doi.org/10.1093/carcin/22.3.453
6. Tompkins L. M., Wallace A. D. Mechanisms of cytochrome P450 induction. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2007, vol. 21, no. 4, pp. 176–181. doi.org/10.1002/jbt.20180
7. Liahovich V. V., Cyrlov V. V. *Induction of xenobiotics metabolism enzymes.* Novosibirsk, Nauka, 1981. 240 p. (in Russian).
8. Sysa A. G., Kiselev P. A., Zhabinskii V. N., Khripach V. A. Effect of the structure of the brassinosteroid side chain on monooxygenase activity of liver microsomes. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2010, vol. 46, no. 1, pp. 23–27. doi.org/10.1134/s0003683810010035
9. Van Meerloo J., Kaspers G. J., Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Methods in Molecular Biology*, 2011, vol. 731, pp. 237–245. doi.org/10.1007/978-1-61779-080-5\_20
10. Zhabinskii V. N., Khripach N. B., Khripach V. A. Steroid plant hormones: Effects outside plant kingdom. *Steroids*, 2015, vol. 97, pp. 87–97. doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.025
11. Zhang L., Jin Y., Huang M., Penning T. M. The Role of Human Aldo-Keto Reductases in the Metabolic Activation and Detoxication of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Interconversion of PAH Catechols and PAH o-Quinones. *Frontiers in Pharmacology*, 2012, vol. 3, pp. 1–12. doi.org/10.3389/fphar.2012.00193
12. Chaudhary A., Willett K. L. Inhibition of human cytochrome CYP 1 enzymes by flavonoids of St. John's wort. *Toxicology*, 2006, vol. 217, no. 2–3, pp. 194–205. doi.org/10.1016/j.tox.2005.09.010
13. Schwarz D., Kisselev P., Schunck W. H., Roots I. Inhibition of 17 $\beta$ -estradiol activation by CYP1A1: Genotype- and regioselective inhibition by St. John's Wort and several natural polyphenols. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 2011, vol. 1814, no. 1, pp. 168–174. doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.09.014
14. Zanger U. M., Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*, 2013, vol. 138, no. 1, pp. 103–141. doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.12.007

### Информация об авторах

Панибрат Олеся Владимировна – научный сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: panibrat@iboch.bas-net.by.

Шабуня Полина Станиславовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: iboh\_lfhi@rambler.ru.

Фатьхова Светлана Анатольевна – ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: iboh\_lfhi@rambler.ru.

Жабинский Владимир Николаевич – член-корреспондент, д-р хим. наук, доцент, гл. науч. сотрудник, заместитель заведующего лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vz@iboch.bas-net.by.

### Information about the authors

Panibrat Olesya Vladimirovna – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: panibrat@iboch.bas-net.by.

Shabunya Polina Stanislavovna – Ph. D. (Biology), Leading researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: iboh\_lfhi@rambler.ru.

Fatykhava Sviatlana Anatol'evna – Senior researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: iboh\_lfhi@rambler.ru.

Zhabinskii Vladimir Nikolaevich – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Assistant professor, Chief researcher, Deputy Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus. E-mail: vz@iboch.bas-net.by.