

ПРОИЗВОДНЫЕ ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ КЛАСС ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

М. П. Киселева¹, В. С. Покровский^{1,2}, В. В. Татарский¹, Л. М. Борисова¹, И. С. Голубева¹, Л. В. Эктова¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²Российский университет дружбы народов; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Марина Петровна Киселева marina-kiselyova@mail.ru

В работе обсуждаются возможные механизмы противоопухолевого действия соединений класса индолокарбазолов. Приводятся литературные данные о способности препаратов на основе производных индолокарбазолов взаимодействовать с несколькими внутриклеточными мишенями и, следовательно, индуцировать разные пути клеточной гибели. Представлены данные по изучению механизма противоопухолевого действия соединений ЛХС-1006 и ЛХС-1208, синтезированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России.

Ключевые слова: производные индолокарбазолов, механизм противоопухолевого действия, внутриклеточные мишени

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-20-26

INDOLOCARBAZOLE DERIVATIVES – A PROMISING CLASS OF ANTICANCER DRUGS

M. P. Kiseleva¹, V. S. Pokrovsky^{1,2}, V. V. Tataskiy¹, L. M. Borisova¹, I. S. Golubeva¹, L. V. Ektova¹

¹N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;

24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²RUDN University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

The paper discusses the possible mechanisms of antitumor action of indolocarbazole derivatives. Here we present a data that show interaction drugs based on indolocarbazole derivatives with several intracellular targets and consequently activation different pathways of cell death. Also we present results of our studies on the mechanisms of antitumor action of compounds LCS-1006 and LCS-1208 synthesized in the N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia.

Key words: indolocarbazole derivatives, mechanism of antitumor action, intracellular target

Введение

Основными недостатками большинства препаратов, используемых в химиотерапии злокачественных заболеваний, являются ограниченная избирательность действия и развитие устойчивости к ним опухолевых клеток. В связи с этим актуально создание новых противоопухолевых химиопрепаратов, действующих на конкретные биомишени опухолевых клеток [1–3]. Поэтому идентификация молекулярных мишеней и изучение их взаимодействия с исследуемыми препаратами – важный этап исследования перспективных противоопухолевых средств.

В клинических исследованиях за рубежом активно изучаются противоопухолевые свойства производных индолокарбазола, в частности эффективный ингибитор протеинкиназы С (РКС) алкалоид стауропорин и его аналоги (энзастаурин, мидостаурин), а также близкий к стауропорину по структуре анти-

биотик ребеккамицин и его водорастворимое производное бекатекарин, обладающие противоопухолевой активностью, связанной с подавлением топоизомеразы I. Энзастаурин в сочетании с цитостатическими препаратами показал эффективность в лечении мелкоклеточного рака легкого [4]. Отмечена результативность комбинаций энзастаурина с темозоломидом у пациентов с рецидивом глиобластомы и с бевацизумабом при рецидивах злокачественных глиом [5, 6]. Оценена эффективность применения мидостаурина у пациентов с острым нелимфобластным лейкозом и острым миелобластным лейкозом, а также для лечения устойчивых к иматинибу желудочно-кишечных стромальных опухолей [7–9].

Клинические испытания показали умеренную эффективность бекатекарина в терапии рака молочной железы [10]. Отмечено, что бекатекарин при лечении мелкоклеточного рака легкого менее активен

в сравнении с существующими препаратами [11]. При метастатическом колоректальном раке бекатекарин оказался практически неэффективным [12]. Ингибитор топоизомеразы I эдотекарин проходит исследование в комбинации с цисплатином у пациентов с прогрессирующими солидными опухолями (рак пищевода, рак желудка) [13].

Результаты клинических исследований различных производных индолокарбазолов продемонстрировали широкий спектр потенциальных показаний к их применению, а также хорошую сочетаемость с известными препаратами. В то же время эффективность производных индолокарбазолов была сопоставимой с существующими препаратами при наличии выраженной токсичности, прежде всего гематологической. Поэтому установление механизмов гибели опухолевых клеток при действии индолокарбазолов необходимо для поиска производных этого ряда соединений, обладающих оптимальной противоопухолевой активностью при минимальной токсичности.

У индолокарбазолов, производных стауроспорина и ребеккамицина, обнаружен широкий спектр различных биологических эффектов, включая фунгицидное, гипотензивное действие и способность ингибировать протеинкиназы [14]. Из наиболее значимых воздействий на клетки млекопитающих необходимо выделить способность индолокарбазолов ингибировать ряд протеинкиназ, эукариотические ДНК-топоизомеразы и связываться с ДНК.

Следует отметить, что классические киназные ингибиторы имеют минимальную молекулярную основу, определяющую биологическую активность соединения, называемого фармакофором, в котором соседние ароматическая аминогруппа и ароматический азот или кислород карбонильной группы образуют пару координированных водородных связей с шарнирной областью киназного домена (АТФ-связывающий участок), имитируя водородные связи молекулы АТФ. Стауроспорин стал одной из первых молекул, использованных в качестве фармакофорной основы для моделирования идеальной структуры ингибиторов протеинкиназ [15]. Возможность использования моделирования фармакофора позволила синтезировать высокоспецифичные ингибиторы целого ряда протеинкиназ, включая РКС, циклинзависимые киназы, киназы, связанные с G-протеином, тирозинкиназы и белок pUL97 цитомегаловируса [16].

Структурную часть молекулы, которая статистически часто повторяется среди специфического большинства уже известных биологически активных соединений, или среди известных лигандов данного типа соединений, или же известных ингибиторов данного фермента, называют привилегированной [17]. Исследование механизма действия способствует тому, что такие привилегированные элементы

химической структуры, как у N-гликозидов индолокарбазолов, могут быть предложены для разработки новых биологически активных соединений.

Известно, что производные индолокарбазолов с двумя N-гликозидными связями, такие как стауроспорин и родственные ему соединения (сограстаурин, мидостаурин и др.), являются мощными ингибиторами РКС – фермента, участвующего во внутриклеточной передаче сигналов [18–20].

Соединения, содержащие индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазольный хромофор с одной N-гликозидной связью, например ребеккамицин и его аналоги, обладают высокой противоопухолевой активностью, которую связывают с их способностью ингибировать фермент топоизомеразу I и/или II [21–23].

Клеточные мишени производных стауроспорина

Экспрессия гена множественной лекарственной устойчивости *MDR1* регулируется РКС-зависимым путем сигнальной трансдукции, ингибиторы РКС могут снижать экспрессию Р-гликопротеина в резистентных опухолевых клетках и тем самым повышать их чувствительность к химиотерапии [24]. Исследования, выполненные *in vitro* и *in vivo*, показали, что селективный ингибитор протеинкиназы 7-гидрокситауроспорин UCN-01 повышает противоопухолевую активность митомицина С и карбоплатина за счет усиления апоптоза, индуцируемого химиотерапевтическими агентами [3, 25, 26].

Кроме того, активация РКС необходима для ангиогенеза опухоли [2, 27]. К настоящему времени идентифицировано большое количество про- и антиангиогенных факторов, а также их рецепторов и путей сигнальной трансдукции. Все они могут быть мишенями для терапии. Многие из этих факторов связаны с тирозинкиназной активностью. Являясь клеточными рецепторами VEGF (Vascular endothelial growth factor), тирозинкиназы инициируют процесс ангиогенеза [28]. Производное карбазола CEP-5214 и его водорастворимый аналог CEP-7055 оказались мощными ингибиторами VEGF, инактивируя при этом внутриклеточные тирозинкиназы и нарушая каскад фосфорилирования, что задерживает пролиферацию эндотелиальных клеток и тормозит рост новых сосудов [29].

Активация регуляторных белков (циклинов) на разных стадиях клеточного цикла происходит с образованием комплекса с циклоспецифичной циклинзависимой киназой CDK1. Блокирование киназ приводит к остановке клеточного цикла. Среди индолокарбазолов способность ингибировать циклинзависимые киназы 1 и 2 проявили стауроспорин и его 7-гидроксианалог UCN-01 [30].

Другой производный аналог стауроспорина РКС-412 (мидостаурин) относится к агентам,

ингибирующим внутриклеточную тирозинкиназу FLT3. Как известно, FLT3-киназа экспрессирована на тех же стволовых CD34⁺ кроветворных клетках, на которых определяется высокий уровень экспрессии фактора стволовых клеток (c-kit) [31]. Однако следует отметить, что мидостаурин не имеет узконаправленного действия. Угнетая активность c-kit, мидостаурин ингибирует рецепторные тирозинкиназы тромбоцитарного фактора роста (PDGFR) и сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGFR), отвечающие за пролиферацию и рост клеток [32].

Ациклический бисиндолмалеимид энзастаурин (LY-317615), разработанный в качестве мощного и селективного АТФ конкурентного ингибитора PKC β , инициирует гибель опухолевых клеток путем подавления пролиферативной активности и ингибирует процесс опухолеиндуцированного ангиогенеза [33].

Энзастаурин в клинически нетоксичных концентрациях индуцирует апоптоз и влияет на передачу сигналов киназы Akt [34]. Необходимо отметить, что PKC способствует активации PI3K/Akt-сигнального внутриклеточного пути, интегрирующего митогенные и антиапоптотические стимулы. PI3K (фосфатидилинозитол 3-киназа) является одним из важнейших регуляторных белков, находящихся на пересечении разных сигнальных путей и контролирующих ключевые функции клетки. PI3K/Akt-путь вовлечен в рост и выживание гематологических злокачественных новообразований, и ингибирование этого пути рассматривается в качестве терапевтической мишени [35].

Клеточные мишени производных ребеккамицина

Другие производные индолокарбазолов – ребеккамицин и его аналоги – способны эффективно подавлять активность топоизомераз – ядерных ферментов, отвечающих за образование разрывов в цепи ДНК в процессе репликации и транскрипции. Ингибиторы топоизомеразы I вызывают обратимые нарушения отдельных нитей ДНК. Химиотерапевтические агенты, подавляющие активность топоизомеразы II, приводят к обратимым нарушениям разрыва двойных нитей. Ингибиторы топоизомеразной активности стабилизируют ДНК-топоизомеразный комплекс, делая клетку неспособной к синтезу ДНК, и являются эффективными индукторами апоптоза [36].

Ребеккамицин и его водорастворимый аналог бекатекарин (NSC-655649) интеркалируют в ДНК, ингибируют связь топоизомеразы I и II с местом расщепления ДНК, предотвращая дальнейшие действия в каталитическом цикле, и инициируют апоптоз [37].

К эффективным ингибиторам топоизомеразы I относится эдотекарин (J-107088), который образует стабильный комплекс ДНК – топоизомеразы I, что приводит к нарушению синтеза ДНК [38].

Индолокарбазолы ЭД-110 и NB-506, воздействуя на ДНК-зависимые топоизомеразы опухолевой клетки, нарушают структуру двойной спирали и, препятствуя репарации разрывов, активизируют накопление поврежденных молекул ДНК, вызывая гибель клетки [39, 40].

К настоящему времени накоплена обширная база данных об антипролиферативной активности индолокарбазолов различной химической структуры, позволяющая считать соединения этого класса перспективными для дальнейшего изучения [41].

В ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России синтезирован ряд соединений производных индолокарбазолов, среди которых изучен механизм противоопухолевого действия арабинопиранозидов ЛХС-1006 и ЛХС-1208 с разной структурой агликона [42–45].

Внутриклеточной мишенью для индолокарбазола ЛХС-1006 является двухцепочечная ДНК. Количественный расчет констант связывания ЛХС-1006 с ДНК позволил установить, что соединение образует 2 типа комплексов с высокой и низкой константой связывания. Так, при взаимодействии индолокарбазола с нативной ДНК формируется комплекс с высокой константой связывания с дуспиральной ДНК ($K^1 = 60 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$). Анализ сайт-специфичности связывания показал, что предпочтительными для ЛХС-1006 являются пары GC, что также характерно для углеводных производных индолокарбазола. Эти участки представлены местами первоначального связывания ЛХС-1006 и образования высокоаффинных комплексов с нативной ДНК (~20 % всех мест связывания). С возрастанием концентрации лиганда и заполнением этих участков формируются более слабые комплексы. При насыщении мест связывания молекулами ЛХС-1006 на каждые 2 пары оснований приходится 1 молекула лиганда с меньшей константой связывания [46].

Встраивание молекулы индолокарбазола ЛХС-1006 между основаниями нуклеиновых кислот способствует раскручиванию двойной спирали ДНК и вносит изменения в ее конформацию. Такие изменения могут приводить к ингибированию комплекса ДНК – топоизомеразы I, блокированию матричных синтезов и активации сенсоров повреждений ДНК, в том числе p53, что инициирует запрограммированную клеточную гибель (апоптоз).

Так как фиксация комплекса ДНК – топоизомеразы I является характерной для ряда индолокарбазолов, авторами исследовательской работы был проведен анализ действия ЛХС-1006 на релаксацию суперскрученной ДНК в бесклеточной системе. Ингибирование 50 % реакции релаксации суперскрученной ДНК обнаружено при концентрации ЛХС-1006 ~2 мкМ, полное ингибирование активности

топоизомеразы I наблюдалось при концентрации 5 мкМ. Для других производных индолокарбазолов было показано, что ингибирование активности топоизомеразы I происходило на этапе сшивки нитей ДНК, что приводило к образованию множества одностранных разрывов ДНК при репликации. Блокирование репликации исследовали по включению ³H-тимидина клетками линии НСТ-116. Согласно полученным данным, ЛХС-1006 эффективно ингибировал репликацию в диапазоне концентраций от 0,5 до 5 мкМ уже в течение 3 ч [47].

Следует отметить, что повреждение ДНК и ингибирование репликации вызывает активацию АТМ- и АTR-киназ с последующей активацией каскада ответа на повреждение ДНК (в том числе стабилизацию и активацию p53 chk1 и chk2, p21 и т. д.), блокирование прохождения клеток по клеточному циклу и индукцию апоптоза [48, 49].

Результатами взаимодействия ЛХС-1006 с ДНК являются нарушение конформации дуплекса, снижение активности топоизомеразы I и p53-зависимая трансактивация генной транскрипции. Так, p53-зависимая активация транскрипции была изучена на сублинии НСТ-116, стабильно трансфицированной плазмидой с репортерным геном, находящимся под контролем p53-зависимого промотора. При обработке клеток препаратом активация p53 возрастала до 3-кратного увеличения экспрессии репортерного гена при концентрации 1 мкМ, а затем падала до уровня, составляющего половину контрольного. Необходимо отметить, что такое падение типично для агентов, связывающихся с ДНК, таких как цитарабин, митоксантрон, этопозид и доксорубин, и может быть связано с ингибированием транскрипции при увеличении концентраций или невозможности для p53 связаться со своими респонсивными элементами в промоторе. Для установления значимости p53 для цитотоксичности авторы проводили сравнение гибели клеток в МТТ-тесте для линии НСТ-116 с диким типом гена *TP53* и делецией этого гена (НСТ-116p53KO). Полученные различия между кривыми гибели не превышали погрешность метода, что определило второстепенную роль p53 в цитотоксичности ЛХС-1006. Это могло быть обусловлено ролью ингибирования активности топоизомеразы I в цитотоксичности, так как в ряде исследований показано, что ингибиторы топоизомеразы I могут вызывать активацию апоптоза независимо от статуса p53 в клетке [50].

Ингибирование репликации, повреждение ДНК, активация p53 могут приводить к блокированию клеток в одной или нескольких фазах клеточного цикла и запуску запрограммированной клеточной гибели. Анализ распределения клеток по фазам цикла показал, что увеличение концентрации индолокарбазола ЛХС-1006 приводило к увеличению количе-

ства клеток с деградацией ДНК (до максимума 70 % при наиболее высокой изученной концентрации). При этом цитотоксическое действие ЛХС-1006 сопровождалось фрагментацией ядерного материала у большинства клеток. Количество клеток в G1- и S-фазах стабильно падало при увеличении концентрации. Процент клеток, находящихся в G2/M-фазе, незначительно возрастал до максимума в 42 % при концентрации 1 мкМ, а затем резко снижался при дальнейшем увеличении концентрации. Предположительно, блокирование клеток в G2/M-фазе может предотвращать клеточную гибель, которая происходит в других фазах цикла. При этом уменьшение процента клеток в G2/M-фазе происходит в тех же концентрациях, что и падение p53-зависимой транскрипции, что может свидетельствовать о важности этого механизма для блокирования клеток в G2/M-фазе при действии индолокарбазола ЛХС-1006. Другими причинами уменьшения количества клеток в этой фазе цикла могут служить ингибирование транскрипции и соответствующее уменьшение экспрессии белков, необходимых для блока митоза. Также возможно, что при увеличении концентрации индолокарбазола ЛХС-1006 происходит ингибирование других внутриклеточных мишеней, что вызывает гибель клеток в G2/M-фазе [51].

ЛХС-1006 эффективно воздействует на клетки с делецией каспазы 3 (MCF-7), подтверждая, что апоптоз является не единственным индуцируемым видом гибели при действии ЛХС-1006. Таким образом, делеции генов, контролирующих процесс апоптоза, не блокируют гибель клеток, обработанных индолокарбазолом, что является важным свойством вещества как потенциального средства для химиотерапии [52].

По результатам морфологического анализа при действии ЛХС-1006 в клетках НСТ-116 отмечаются фрагментированные ядра, а также формирование апоптотических телец. Это согласуется с данными, полученными с помощью анализа плоидности и изучения характера деградации ДНК в вышеописанных экспериментах, и подтверждает, что основным типом клеточной гибели является апоптоз.

Итак, механизмы гибели клеток при действии ЛХС-1006 включают ингибирование пролиферации, остановку клеточного цикла и активацию апоптоза. Эти механизмы проявляются в зависимости от концентрации индолокарбазола ЛХС-1006 и его взаимодействия с конкретными внутриклеточными мишенями.

Компьютерное моделирование взаимодействия молекулы арабинопиранозила ЛХС-1006 с ДНК показало, что соединение интеркалирует индолокарбазольной частью, а углеводная группа образует в малой бороздке дополнительные водородные связи [46].

Особенностью взаимодействия ЛХС-1006 с ДНК является образование сильного комплекса с нативной ДНК, причем лиганд занимает ~20 % всех мест связывания. При насыщении мест связывания молекулами ЛХС-1006 на каждые 2 пары оснований приходится 1 молекула лиганда. В результате образования интеркаляционных комплексов нарушается конформация двойной спирали за счет сильного растяжения и раскручивания при максимальном заполнении ДНК лигандом. Вызываемые комплексобразованием изменения конформации двойной спирали ДНК нарушают матричные синтезы. Гибель опухолевых клеток наступает в основном за счет образования сильного типа интеркаляционных комплексов между лигандом и ДНК [43].

Определены мишени и молекулярные механизмы противоопухолевого действия производного индокарбазола ЛХС-1208. Арабинопиранозил ЛХС-1208 интеркалирует в двухцепочечную ДНК с образованием высокоаффинных комплексов, характеризующихся различными константами связывания и максимальным числом мест посадки лиганда. Одна молекула ЛХС-1208 занимает участок, соответствующий 4×5 нуклеотидным остаткам. Анализ функций лиганда подтверждает его влияние на проникновение через мембраны, внутриклеточную миграцию, сортировку и секрецию белков [44, 45]. Установлено, что ЛХС-1208 в микромолярных концентрациях ингибирует ядерный белковый фермент топоизомеразу I, необходимую для образования временного комплекса с разорванной спиралью опухолевой ДНК во время процесса репликации.

Таким образом, непосредственными мишенями производных индокарбазолов могут служить топоизомеразы I и II, серин-треониновые протеинкиназы, PKC, связанная с G-протеином и P-гликопротеином, Akt и PI3K киназы, циклинзависимые киназы 1 и 2, тирозинкиназа FLT3. Вместе с тем ингибирование этих киназ не всегда достаточно для реализации цитотоксичности, тогда как не только антипролиферативный эффект, а именно индукция гибели существенна для элиминации опухолевых клеток.

Кроме того, действие индокарбазолов может стимулировать дополнительные механизмы, например вакуолизацию цитоплазмы, связанную с активацией вакуолярной АТФазы. Так, отличительной особенностью гибели клеток при действии производного индокарбазола ЛХС-1006 является фенотип вакуолизации цитоплазмы, связанный с быстрым расширением лизосомального компартмента в результате активности вакуолярной АТФазы [43]. Некоторые представители класса индокарбазолов могут встраиваться в участок АВЛ-тирозинкиназы, называемый «тирозиновым карманом», блокируя процесс фосфорилирования и последовательно всю цепь событий, приводя к пролиферации патологических клеток [29].

Заключение

Открытие ряда биологических активностей у индокарбазолов привело к поиску и созданию их синтетических аналогов и низкомолекулярных производных, представляющих терапевтически важный класс противоопухолевых средств с меньшими токсическими свойствами. В ряде работ предложены различные подходы к химической модификации соединений указанного класса, позволяющие повысить их противоопухолевый эффект, исходя из их структурных особенностей и молекулярного механизма действия.

Исследование механизма действия способствует тому, что различные модификации химической структуры индокарбазолов могут быть использованы в качестве основы для разработки новых биологически активных соединений или новых лекарств со сходными или, возможно, улучшенными по сравнению с исходными соединениями свойствами, а также для разработки библиотек таких соединений.

Разработка новых потенциальных противоопухолевых препаратов из класса производных индокарбазолов необходима для расширения возможностей химиотерапевтического лечения злокачественных новообразований и перспективна для преодоления лекарственной резистентности опухолевых клеток за счет индукторов, связанных с механизмом их действия.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Shtil A.A. Signal transduction pathways and transcriptional mechanisms as targets for prevention of emergence of multidrug resistance in human cancer cells (invited review). *Current Drug Targets* 2001;2:57–77. PMID: 11465539. DOI:10.2174/1389450013348957.
2. Блохин Д.Ю., Чмутин Е.Ф., Иванов П.К. Молекулярные мишени для противоопухолевой терапии: факторы роста, ангиогенеза, апоптоза. *Российский биотерапевтический журнал* 2011;10(3):25–30. [Blokhin D.Y., Chmutin E.F., Ivanov P.K. Molecular targets for anticancer therapy: growth factors, angiogenesis and apoptosis. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian biotherapeutic journal* 2011;10(3):25–30. (In Russ.)].
3. Блохин Д.Ю., Чмутин Е.Ф., Иванов П.К. Молекулярные мишени для противоопухолевой терапии: пути передачи сигнала и эпигенетические

- модуляторы. Российский биотерапевтический журнал 2011;10(4):81–8. [Blokhin D.Y., Chmutin E.F., Ivanov P.K. Molecular targets for anticancer therapy: signaling pathways and epigenetic modulators. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2011;10(4):81–8. (In Russ.)].
4. Oh Y., Herbst R.S., Burris H. et al. Enzastaurin, an oral, serine/threonine kinase inhibitor, as second- or third-line therapy of non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(7):1135–41. PMID: 18309949. DOI: 10.1200/jco.2007.14.3685.
 5. Rampling R., Sanson M., Gorlia T. et al. A phase I study of LY317615 (enzastaurin) and temozolomide in patients with gliomas (EORTC trial 26054). *Neuro-Oncology* 2012;14:344–50. PMID: 22291006. DOI: 10.1093/neuonc/nor221.
 6. Oda Y., Iwamoto F.M., Moustakas A. et al. A phase II trial of enzastaurin (LY317615) in combination with bevacizumab in adults with recurrent malignant gliomas. *J Neurooncol* 2016;127(1):127–35. PMID: 26643807. DOI: 10.1007/s11060-015-2020-x.
 7. Stone R.M., De Angelo D.J., Klimek V. et al. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in FLT3 respond to a small-molecule FLT3 tyrosine kinase inhibitor, PKC 412. *Blood* 2005;105:54–60. PMID: 15345597. DOI: 10.1182/blood-2004-03-0891.
 8. Cools J., Mentens N., Furet P. et al. Prediction of resistance to small molecule FLT3 inhibitors: implications for molecularly targeted therapy of acute leukemia. *Cancer Res* 2004; 64(18): 6385–9. PMID: 15374944. DOI: 10.1158/0008-5472.can-04-2148.
 9. Колс Ян. Применение Мидостаурина для лечения желудочно-кишечных стромальных опухолей. Патент США № 5093330 от 03.03.1992 г. [Kols Jan (BE) Administration of Midostaurin for treating gastrointestinal stromal tumours. RU2 410 098 C2. (In Russ.)].
 10. Burstein H.J., Overmoyer B., Gelman R. et al. Rebeccamycin analog for refractory breast cancer: a randomized phase II trial of dosing schedules. *Invest New Drugs* 2007;25(2):161–4. PMID: 16969707. DOI: 10.1007/s10637-006-9007-6.
 11. Schwandt A., Mekhail T., Halmos B. et al. Phase-II trial of rebeccamycin analog, a dual topoisomerase-I and -II inhibitor, in relapsed “sensitive” small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012;7(4):751–4. PMID: 22425925. DOI: 10.1097/jto.0b013e31824abca2.
 12. Goel S., Wädler S., Hoffman A. et al. A phase II study of rebeccamycin analog NSC 655649 in patients with metastatic colorectal cancer. *Invest New Drugs* 2003;21(1):103–7. PMID: 12795535.
 13. Clinical Trials. gov: A service of the U.S. National Institutes of Health. (Accessed on 20 June 2015). [Электронный ресурс]. URL: <http://www.clinicaltrials.gov>
 14. Sánchez C., Méndez C., Salas J.A. Indolocarbazole natural products: occurrence, biosynthesis, and biological activity. *Nat Prod Rep* 2006;23:1007–45. PMID: 17119643. DOI: 10.1039/b601930g
 15. Fabbro D., Ruetz S., Buchdunger E. Protein kinases as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs. *Pharmacol Ther* 2002;93(2–3):79–98. PMID: 12191602. DOI: 10.1016/S0163-7258(02)00179-1.
 16. Zimmermann A., Wilts H., Lenhardt M. et al. Indolocarbazoles exhibit strong antiviral activity against human cytomegalovirus and are potent inhibitors of the pUL97 protein kinase. *Antiviral Res* 2000;48:49–60. PMID: 11080540. DOI: 10.1016/S0166-3542(00)00118-2.
 17. Kombarov R., Altieri A., Genis D. et al. BioCores: identification of a drug/natural product-based privileged structural motif for small-molecule lead discovery. *Mol Divers* 2010;14(1):193–200. PMID: 19468851. DOI: 10.1007/s11030-009-9157-5.
 18. Kleinschrot J., Hartenstein J., Rudolf C., Schachtele C. Novel indolocarbazole protein kinase C inhibitors with improved biochemical and physicochemical properties. *Bioorg Med Chem Lett* 1995;5:55–60.
 19. Goekjian P.G., Jirousek M.R. Protein kinase C in the treatment of disease: signal transduction pathways, inhibitors, and agents in development. *Curr Med Chem* 1999;6:877–903. PMID: 10495357.
 20. Bridges A.J. Chemical Inhibitors of Protein Kinases. *Chem Rev* 2001; 101:2541–71. DOI: 10.1021/cr000250y.
 21. Bush J.A., Long B.H., Catino J.J., Bradner W.T. Production and biological activity of rebeccamycin, a novel antitumor agent. *J Antibiotics* 1987;40:668–78. PMID: 3112080. DOI: 10.7164/antibiotics.40.668.
 22. Sordet O., Khan Q.A., Kohn K.W., Pommier Y. Apoptosis induced by topoisomerase inhibitors. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* 2003;3(4):271–90. DOI: 10.2174/1568011033482378.
 23. Смирнова З.С., Борисова Л.М., Киселева М.П. и др. Поиск ингибиторов топоизомераз I и/или II среди N-гликозидов производных индоло- [2,3-а]карбазолов для лечения злокаче- ственных опухолей. Материалы симпозиума «Результаты фундаментальных и прикладных исследований для создания новых лекарственных средств» (Москва, 9–11 июня 2008 г.). М.: Фирма «Слово», 2008. С. 191–92. [Smirnova Z.S., Borisova L.M., Kiseleva M.P. et al. Search for inhibitors of topoisomerases I and/or II among n-glycosides of indolo derivatives [2,3-a] carbazoles for the treatment of malignant tumors. Materials of the Symposium “results of fundamental and applied research for the development of new drugs” (Moscow, June 9–11, 2008). М.: Company “Word”, 2008. P. 191–92. (In Russ.)].
 24. List A.F. Non-P-glycoprotein drug export mechanisms of multidrug resistance. *Semin Hematol* 1997; 34(4 Suppl 5):40–7. PMID: 9408957.
 25. Gescher A. Analogs of staurosporine: potential anticancer drugs. *Biochem Pharmacol* 1998;31:721–28. PMID: 9809468.
 26. Akinaga S., Gomi K., Morimoto M. et al. Antitumor activity of UCN-01, a selective inhibitor of protein kinase C, in murine and human tumor models. *Cancer Res* 1991;51:4888–92. PMID: 1893379.
 27. Sikic B.I. Pharmacologic approaches to reversing multidrug resistance. *Semin Hematol* 1997;34(4 Suppl 5):40–7. PMID: 9408960.
 28. Xia P., Aiello L.P., Ishii H. et al. Characterization of vascular endothelial growth factor’s effect on the activation of protein kinase C, its isoforms, and endothelial cell growth. *J Clin Invest* 1996;98:2018–26. PMID: 8903320. DOI: 10.1172/JCI119006.
 29. Ruggeri B., Singh J., Gingrich D. et al. CEP-7055: a novel, orally active pan inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases with potent antiangiogenic activity and antitumor efficacy in preclinical models. *Cancer Res* 2003;63(18):5978–91. PMID: 14522925.
 30. Bredel M., Pollack I.F., Freund J.M. et al. Protein kinase C inhibition by UCN-01 induces apoptosis in human glioma cells in a time-dependent fashion. *J Neurooncol* 1999;41:9–20. PMID: 10222418.
 31. Rosnet O., Buhning H.J., Marchetto S. et al. Human FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinases expressed at the surface of normal and malignant hematopoietic cells. *Leukemia* 1996;10:248. PMID: 8637232.
 32. Weiseberg E., Boulton C., Kelly L.M. et al. Inhibition of mutant FLT3 receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC. *Int J Cancer* 2002;1(5):433–43.

- PMID: 12124173. DOI:10.1016/s1535-6108(02)00069-7.
33. Faul M.M., Gillig J.R., Jirousek M.R. et al. Acyclic N-(azacycloalkyl) bisindolylmaleimides: isozyme selective inhibitors of PKC β . *Bioorg Med Chem Lett* 2003;13:1857–9. PMID: 12749884. DOI:10.1002/chin.200336180.
 34. Querfeld C., Rizvi M.A., Kuzel T.M. et al. The selective protein kinase C β inhibitor enzastaurin induces apoptosis in cutaneous T-cell lymphoma cell lines through the AKT pathway. *J Invest Dermatol* 2006;126(7):1641–7. PMID: 16645590. DOI: 10.1038/sj.jid.5700322.
 35. Rizvi M.A., Ghias K., Davies K.M. et al. Enzastaurin(LY317615), a protein kinase C β inhibitor, inhibits the AKT pathway and induces apoptosis in multiple myeloma cell lines. *Mol Cancer Ther* 2006;5:1783–9. PMID: 16891464. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-05-0465.
 36. Denny W.A. Emerging DNA topoisomerase inhibitors as anticancer drugs. *Expert Opin Emerg Drugs* 2004;9:105–33. DOI: 10.1517/14728214.9.1.105.
 37. Long B.H., Rose W.S., Vyas D.M. et al. Discoveri of antitumor indolocarbazoles: Rebeccamycin, NSC 655649, and fluoroloindolocarbazoles. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2002;2:255–66. PMID: 12678746. DOI: 10.2174/156801102354218.
 38. Yoshinari T., Ohkubo M., Fukasawa K. et al. Mode of action of a new indolocarbazole anticancer agent, J-107088, targeting topoisomerase I. *Cancer Res* 1999;59:4271–5. PMID: 10485471.
 39. Yoshinari T., Yamada A., Uemura D. et al. Induction of Topoisomerase I-mediated DNA Cleavage by a New Indolocarbazole, ED-110. *Cancer Res* 1993;53:490–4. PMID: 8381047.
 40. Ohkubo M., Kojiri K., Kondo H. et al. Synthesis and Biological Activities of Topoisomerase I Inhibitors, 6-N-amino analogues of NB-506. *Bioorg Med Chem Letters* 1999;9:1219–24. PMID: 10340602.
 41. Sherer C., Snape T.J. Heterocyclic scaffolds as promising anticancer agents against tumours of the central nervous system: Exploring the scope of indole and carbazole derivatives. *Eur J Med Chem* 2015;97:552–60. PMID: 25466446. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.11.007.
 42. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Борисова Л.М. и др. Изучение противоопухолевой активности производного индоло[2,3-а]карбазола ЛХС-1006. *Российский биотерапевтический журнал* 2005;4(1):70–1. [Smirnova Z.S., Kubasova I.Yu., Borisova L.M. et al. The study of the antitumor activity of the indolo[2,3-a] carbazole derivative LHS-1006. *Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2005;4(1):70–1. (In Russ.)].
 43. Татарский В.В. Механизмы гибели опухолевых клеток при действии новых углеводных производных индолокарбазолов. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2 сентября 2010. 22 с. [Tatarsky V.V. Mechanisms of tumor cell death under the action of new carbohydrate derivatives of indolocarbazoles. Abstracts. Dis kand. biol. sciences. Moscow, September 2, 2010. 22 p. (In Russ.)].
 44. Киселева М.П., Шпрах З.С., Деженкова Л.Г. и др. Действие производного индолокарбазолов ЛХС-1208 на топоизомеразу I. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(1):89. [Kiseleva M.P., Shprakh Z.S., Dezhenkova L.G. et al. Effect of indolocarbazole derivative LHS-1208 on topoisomerase I. *Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2015;14(1):89. (In Russ.)].
 45. Киселева М.П., Шпрах З.С., Борисова Л.М. и др. Доклиническое изучение противоопухолевой активности производного N-гликозида индолокарбазола ЛХС-1208. *Сообщение II. Российский биотерапевтический журнал* 2015;3:41–8. [Kiseleva M.P., Shprakh Z.S., Borisova L.M. et al. Preclinical study of antitumor activity of indolocarbazoles N-glycosides derivative LCS-1208. Report II. *Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2015;3:41–8. (In Russ.)].
 46. Kaluzhny D.N., Tatarskiy V.V., Dezhenkova L.G. et al. Novel antitumor L-arabinose derivative of indolocarbazole with high affinity to DNA. *Chem Med Chem* 2009;4(10):1641–8. PMID: 19672918. DOI:10.1002/cmcd.200900227.
 47. Tatarskiy V.V., Kaluzhny D.N., Shchyolkina A.K. et al. High antitumor activity of novel glycosylated indolocarbazole is determined by strong intercalation into DNA. Proc. 14th Euroconference on Apoptosis “Death or Survival: Fate in Sardinia”, Chia, Italy, 2006 230 p.
 48. Denny W.A. Emerging DNA topoisomerase inhibitors as anticancer drugs. *Expert Opin Emerg Drugs* 2004;9:105–33. PMID: 15155139. DOI:10.1517/14728214.9.1.105.
 49. Jackson J.R., Gilmartin A., Imburgia C. et al. An indolocarbazole inhibitor of human checkpoint kinase (Chk1) abrogates cell cycle arrest caused by DNA damage. *Cancer Res* 2000;60:566–72. PMID: 10676638.
 50. Kaluzhny D.N., Borisova O.F., Shchyolkina A.K. et al. Novel antitumor L-arabinose derivative of indolocarbazole with high affinity to the duplex and telomeric G-quadruplex DNA. *Second International Meeting on Quadruplex DNA*, Louisville, KY, 2009 60 p.
 51. Калюжный Д.Н., Татарский В.В., Бондарев Ф.С. и др. Взаимодействие с ДНК как фактор цитотоксичности нового гликозидного производного индолокарбазола. *Доклады РАН*. 2006;411(6):833–836. [Kaluzhny D.N., Tatarskiy V.V., Bondarev F.S. et al. Interaction with DNA as a Factor of Cytotoxicity of Novel Glycosylated Derivative of Indolocarbazole. *Reports of RAS*. 2006;411(6):833–36. (In Russ.)].
 52. Татарский В.В., Плихтык И.Л., Мельник С.Я. и др. Механизмы противоопухолевого действия нового производного индолокарбазолов. *Материалы конференции «Фундаментальная онкология. 2-е Чтения им. проф. Н.Н. Петрова».* Санкт-Петербург, 2006. *Вопросы онкологии* 2006;52:38–9. [Tatarskiy V.V., Plihtyay I.L., Mel'nik S.Ya. et al. Mechanisms of the antitumor action of a new derivative of indolocarbazoles. Proceedings of the conference “Fundamental Oncology. 2nd Readings to them. prof. N.N. Petrov. St. Petersburg. *Voprosy oncologiy = Oncology issues* 2006;52:38–9. (In Russ.)].

ORCID авторов/ORCID of authors

В.С. Покровский/V.S. Pokrovsky: 0000-0003-4006-9320

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.