

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ N-ГЛИКОЗИДОВ ИНДОЛО[2,3-А]КАРБАЗОЛОВ С УГЛЕВОДНЫМ ОСТАТКОМ КСИЛОЗОЙ

И.С. Голубева, Н.П. Яворская, Л.В. Эктова, М.В. Дмитриева, Л.М. Борисова, В.А. Еремина,
Н.И. Тихонова, Р.Б. Пугачева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Ирина Сергеевна Голубева irinagolubewa52@mail.ru

Введение. Поиск новых противоопухолевых агентов в ряду производных индоло[2,3-а]-карбазолов является актуальным и перспективным направлением, поскольку в этом классе обнаружены соединения с противоопухолевой активностью. В лаборатории химического синтеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России разработали оригинальный и эффективный метод синтеза гликозидов индоло[2,3-а]-пирроло[3,4-с]-карбазолов, позволяющий синтезировать производные N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов с разными заместителями в гетероциклической части, в том числе при малеимидном атоме азота, и с разными углеводными остатками.

Цель исследования — первичная оценка противоопухолевой активности новых производных индолокарбазолов с углеводным остатком ксилозой на моделях опухолевого роста мышей.

Материалы и методы. Соединения изучали на перевиваемых опухолях мышей: эпидермоидной карциноме легкого Льюис (LLC), раке толстой кишки Акатол, раке шейки матки РШМ-5, аденокарциноме молочной железы Ca-755. Исследования проведены на иммунокомпетентных мышцах: самцах и самках гибридов BDF₁(C₅₇Bl/6 × DBA/2), самках CBA/Lac и Balb/c. Растворы соединений готовили ex tempore и вводили мышам внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг ежедневно в течение 5 дней. Противоопухолевый эффект оценивали по торможению роста опухоли и увеличению продолжительности жизни леченых животных по сравнению с контрольными.

Результаты. Восемь изученных соединений, содержащих в качестве углеводного компонента D-ксилозу и различные заместители при малеимидном атоме азота, проявили противоопухолевую активность разной степени. Выявлены 2 производных: N-[5,7-диоксо-12-(β-D-ксилопиранозил)-индол[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазол-6-ил]бензамид (соединение 4) и N-[5,7-диоксо-12-(β-D-ксилопиранозил)-5,7,12,13-тетрагидро-6H-индол[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазол-6-ил]пиридин-2-карбоксамид (соединение 8), показавшие высокую противоопухолевую активность на 4 перевиваемых опухолях мышей с продолжительностью эффекта от 12 дней наблюдения и более. Наиболее выраженный противоопухолевый эффект получен на РШМ-5 и Ca-755, для соединений 4 и 8 торможение роста опухоли составило: на РШМ-5 — 68–82 % и 80–72 % соответственно; на Ca-755 — 57–62 % и 86–68 % соответственно (p < 0,05).

Заключение. Для дальнейшего исследования выбрали соединение N-[5,7-диоксо-12-(β-D-ксилопиранозил)-5,7,12,13-тетрагидро-6H-индол[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазол-6-ил]пиридин-2-карбоксамид, как показавшее наибольший противоопухолевый эффект.

Ключевые слова: производные индолокарбазолов, противоопухолевая активность, перевиваемые опухоли мышей

Для цитирования: Голубева И.С., Яворская Н.П., Эктова Л.В. и др. Противоопухолевая активность некоторых производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов с углеводным остатком ксилозой. Российский биотерапевтический журнал 2020;19(4): 86–93.

DOI: 10.17650/1726-9784-2020-19-4-86-93



ANTITUMOR ACTIVITY OF SOME DERIVATIVES OF INDOLO[2,3-A]CARBAZOLES N-GLYCOSIDES WITH XYLOSE CARBOHYDRATE RESIDUE

I.S. Golubeva, N.P. Yavorskaya, L.V. Ektova, M.V. Dmitrieva, L.M. Borisova, V.A. Eremina, N.I. Tikhonova, R.B. Pugacheva

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Introduction. The search for new antineoplastic agents in a series of indolo[2,3-a]-carbazole derivatives is an urgent and promising direction, since compounds with antitumor activity have been found in this class. In the chemical fusion laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of the Ministry of Health of Russia has developed an original and effective method for the synthesis of glycosides

of indolo[2,3-*a*]-pyrrolo[3,4-*c*]carbazoles, which makes it possible to synthesize derivatives of *N*-glycosides of indolo[2,3-*a*]carbazoles with different substituents in the heterocyclic parts including at the maleimide nitrogen atom and with different carbohydrate residues.

The purpose of the study — the primary assessment of the antitumor activity of new derivatives of indolocarbazoles with a carbohydrate residue xylose in models of tumor growth mice.

Materials and methods. The compounds studied at transplanted tumors of mice: the Lewis epidermoid carcinoma (LLC), colon cancer ACATOL, cervical cancer RSHM-5, breast adenocarcinoma CA-755. Studies were performed on immunocompetent mice: males and females of BDF1 hybrids ($C_{57}Bl/6 \times DBA/2$), females CBA/Lac and Balb/c. Compound solutions were prepared *ex tempore* and administered to the mice intraperitoneally at a dose of 60 mg/kg daily for five days. The antitumor effect was evaluated as to of tumor growth inhibition and increase of life span of the treated animals as compared with the control ones.

Results. Eight compounds studied, containing *D*-xylose as a carbohydrate component and various substituents at the maleimide nitrogen atom, showed different degrees of antitumor activity. Two derivatives have been identified: *N*-[5,7-dioxo-12-(β -*D*-xylopyranosyl)-indole[2,3-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazol-6-yl]benzamide (compound 4) and *N*-[5,7-dioxo-12-(β -*D*-xylopyranosyl)-5,7,12,13-tetrahydro-6*H*-indole[2,3-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-6-yl]pyridin-2-carboxamide (compound 8), which showed high antitumor activity on 4 solid tumors of mice with a duration of effect of 12 days or more.

The most pronounced antitumor effect was obtained in compounds 4 and 8 in RSHM-5 and Ca-755, tumor growth inhibition was amounted, respectively: in RSHM-5 — 68–82 % and 80–72 %; for Ca-755 — 57–62 % and 86–68 % ($p < 0.05$).

Conclusion. For further research, we chose the compound (*N*-[5,7-dioxo-12-(β -*D*-xilopiranosil)-5,7,12,13-tetrahydro-6*H*-indole[2,3-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazol-6-yl]pyridin-2-carboxamide).

Key words: indolocarbazole derivatives, antitumor activity, transplantable mouse tumors

For citation: Golubeva I.S., Yavorskaya N.P., Ektova L.V. et al. Antitumor activity of some derivatives of indolo[2,3-*a*]carbazoles *N*-glycosides with xylose carbohydrate residue. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2020;19 (4): 86–93. (In Russ.).

Введение

Класс индоло[2,3-*a*]-карбазолов представлен многочисленными соединениями, как выделенными из природных источников, так и полученными синтетическим путем. Представители этого класса обладают различной биологической активностью: антибактериальной, противогрибковой, противовирусной и противоопухолевой [1–3].

Среди *N*-гликозидов индолокарбазолов был выявлен антибиотик ребеккамицин, обладающий противоопухолевой активностью.

Для ребеккамицинового ряда индолокарбазолов наиболее изучены 2 соединения: эдотекарин — 12-(β -*D*-глюкопиранозил)-2,10-дигидрокси-6-[[2-гидрокси-1-(гидроксиметил)этил]амино]-5,7-диоксо-индол[2,3-*a*]пиррол[3,4-*c*]карбазол, полученный синтетическим путем, и бекатекарин — тартрат 1,11-дихлор-6-[2-диэтиламино)этил]—5,7-диоксо-12-(4-*O*-ил- β -*D*-глюкопиранозил) — индоло[2,3-*a*]пирроло[3,4-*c*]карбазол, полученный на основе антибиотика ребеккамицина.

Противоопухолевая активность эдотекарина была подтверждена в исследованиях *in vivo* на моделях рака молочной железы, шейки матки, глотки, легких, толстой кишки, желудка, печени. Лекарственное средство успешно прошло испытания в клинике [4, 5].

Бекатекарин продемонстрировал противоопухолевую активность в отношении экспериментальных моделей: лейкозов (P-388, L-1210), меланомы (B-16), ретикулярной саркомы (M-5076) и легочной карциномы (M109) [1]. Бекатекарин показал эффективность при клинических исследованиях [6].

На противоопухолевый эффект, спектр противоопухолевого действия и биодоступность *N*-гликозидов индолокарбазолов оказывают влияние как заместители в агликоне (ароматический, при малеимидном атоме азота), так и природа углеводного остатка [7–10].

Таким образом, работы по индолокарбазолам и их углеводсодержащим производным перспективны для дальнейшей оптимизации химической структуры. Выявление связи химической структуры веществ с их биологической активностью открывает оптимальные пути для создания лекарственных препаратов высокой избирательности и эффективности действия [11–13].

В лаборатории химического синтеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России разработали эффективный метод синтеза гликозидов индоло[2,3-*a*]-пирроло[3,4-*c*]карбазолов [14], позволяющий получать производные индолокарбазола с различными углеводными остатками и разными заместителями в гетероциклической части. Так были синтезированы *N*-гликозиды индолокарбазолов с общей формулой (рис. 1), заместителями при малеимидном атоме азота и различными углеводными остатками: *L*-арабинозы, *D*-галактозы, *D*-ксилозы, *D*-рибозы [15].

Полученные соединения практически нерастворимы в воде, почти нерастворимы в этаноле и ацетоне, растворимы в диметилсульфоксиде (ДМСО) и диметилформамиде [16]. Для изучения соединений *in vivo* первоначально субстанции растворяли в ДМСО и затем разводили физиологическим раствором

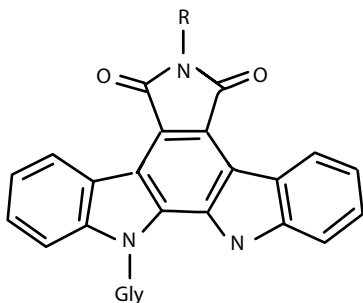


Рис. 1. Основная формула производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов, где R – H, NH₂, OH, NHCHO и др.; Gly – L-арабинопиранозил, D-ксилопиранозил, D-галактопиранозил, D-рибопиранозил

Fig. 1. The basic formula of n-glycosides derivatives of indolo[2,3-a]carbazoles. Notation: R – H, NH₂, OH, NHCHO et al.; Gly – L-arabinopyranosyl, D-xylopyranosyl, D-galactopyranosyl, D-riboypyranosyl

до концентрации ДМСО 10 %. В дальнейшем в результате экспериментальных исследований в лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДнТО ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России создана модель лекарственной формы (ЛФ), которую использовали для изучения противоопухолевой активности синтезированных соединений производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов.

Необходимо было провести первичную оценку противоопухолевой активности производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов с некоторыми заместителями при малеимидном атоме азота (рис. 2, R), с углеводным остатком ксилозой и выбрать наиболее активного представителя из изученных соединений данной группы.

Цель исследования – изучение противоопухолевой активности синтезированных соединений на солидных моделях опухолевого роста у мышей в соответствии с методикой, принятой в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России [17].

Материалы и методы

Изучили противоопухолевую активность 8 соединений – производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов с разными заместителями при малеимидном атоме азота и с углеводным остатком ксилозой (см. рис. 2, R), синтезированных в лаборатории химического синтеза НИИ ЭДнТО ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Соединения изучали на перевиваемых солидных опухолях мышей: эпидермоидной карциноме легкого Льюис (LLC), раке шейки матки РШМ-5, аденокарциноме молочной железы Ca-755, раке толстой кишки Акатол. Эти модели опухолевого роста мышей широко применяются в экспериментальной

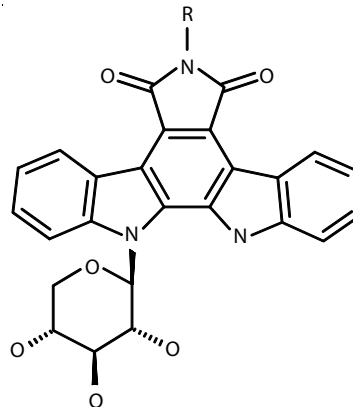


Рис. 2. Производные N-гликозидов индокарбазолов с заместителем в положении R и углеводным остатком ксилозой, где: 1 R – атом водорода (H); 2 R – аминогруппа (NH₂); 3 R – формамид (NHCHO); 4 R – бензамид (NHCOC₆H₅); 5 R – N'-фенилмочевина (NHCONHC₆H₅); 6 R – изоникотинамид (NHCOC₅H₄N); 7 R – никотинамид (NHCOC₅H₅N); 8 R – пиридин-2-карбоксамид (NHCOC₅H₃N)

Fig. 2. Derivatives of N-glycosides of indolocarbazoles with a carbohydrate residue xylose and substituents: 1 R – hydrogen atom (H); 2 R – amino group (NH₂); 3 R – formamide (NHCHO); 4 R – benzamide (NHCOC₆H₅); 5 R – N'-phenylurea (NHCONHC₆H₅); 6 R – isonicotinamide (NHCOC₅H₄N); 7 R – nicotinamide (NHCOC₅H₅N); 8 R – pyridine-2-carboxamide (NHCOC₅H₃N)

онкологии для доклинической оценки противоопухолевой активности новых субстанций [18].

В опытах использовали 2–10-й пассажи штаммов опухолевых моделей. В эксперименте инокуляцию опухолевых клеток проводили подкожно в правую подмышечную область каждой мыши по 50 мг опухолевой взвеси в среде 199 в разведении 1 : 10 (5 × 10⁶ клеток) [17].

В опытах на LLC использовали самцов, на Ca-755 – самок мышей-гибридов 1-го поколения BDF₁ (C₅₇Bl/6 × DBA/2), на РШМ-5 – самок CBA/Lac, на Акатол – самок Balb/c.

Штаммы Ca-755, РШМ-5 и Акатол поддерживали на самках линейных мышей C₅₇Bl/6, CBA/Lac и Balb/c соответственно при подкожной перевивке, штамм LLC – при внутримышечной [19].

В исследования включали животных с массой тела 18–22 г. Мышей получали из разведения экспериментально-биологической лаборатории (виварий) ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» ФГБУ «Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животных содержали в помещении вивария с естественным освещением на брикетированном корме и постоянном доступе к воде.

Перед исследованием мышей распределяли в группы по 6–7 особей (n = 6–7), контрольные группы состояли из 10 животных (n = 10).

Таблица 1. Противоопухолевая активность соединений из класса N-гликозидов индолокарбазолов с ксилозой при внутрибрюшинном введении на LLC

Table 1. Antitumor activity of compounds from the class of N-glycosides of indolocarbazoles with xylose during intraperitoneal administration on LLC

Соединения Compound	ТРО, % TGI, %								УПЖ, % ILS, %	Гибель от токсичности, % случаев Toxicity death, %
	Дни после окончания лечения Days after treatment									
	1	4	8	12	15–16	19–20	22	26		
1	17	20	8	5	6	—	—	—	8	0
2	27	46	35	34	34	26	34	—	7	0
3	53	55	35	22	24	37	—	—	21	0
4	62	62	54	51	48	—	—	—	35	0
5	71	43	46	19	6	23	—	—	11	0
6	48	48	38	17	32	—	—	—	17	0
7	55	30	38	43	40	—	—	—	2	17
8	75	82	59	67	71	67	56	62	33	0

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: ТРО – торможение роста опухоли; УПЖ – увеличение продолжительности жизни.
Note. Here and in table 2–4: TGI – tumor growth inhibition; ILS – increase of life span.

Лечение начинали через 48 ч после трансплантации опухолей – время интенсивного размножения и наибольшей чувствительности опухолевых клеток к химиотерапии [17, 19, 20].

Для первичной оценки противоопухолевой активности все соединения изучали в дозе 60 мг/кг при внутрибрюшинном введении ежедневно в течение 5 дней с интервалом 24 ч в экспериментальной ЛФ. Состав модели ЛФ включал: действующее вещество 5 мг/мл, ДМСО (5 %) и спирт этиловый 95 % (20 %) в качестве комплексного растворителя, солубилизатор – комплексобразователь коллидон 17 PF (20 %). ЛФ готовили *ex tempore* непосредственно перед опытами.

Критериями оценки противоопухолевой активности служили: торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) подопытных животных по сравнению с контрольными животными [17].

ТРО вычислялось по формуле:

$$\text{ТРО, \%} = (V_k - V_o) / V_k \times 100,$$

где V_k и V_o – средний объем опухолей (мм^3) в контрольной и опытной группах, который определялся как произведение 3 максимальных взаимно перпендикулярных размеров опухолевого узла (длина – l , ширина – b , высота – h) у каждого животного.

Измерение объема опухолей проводили на разных сроках (каждые 3–5 дней) после окончания лечения, в зависимости от скорости роста опухоли.

УПЖ вычисляли по формуле:

$$\text{УПЖ, \%} = (\text{СПЖ}_o - \text{СПЖ}_k) / \text{СПЖ}_k \times 100,$$

где СПЖ_o и СПЖ_k – средняя продолжительность жизни (сут) в опытных и контрольных группах животных.

Минимальные критерии активности – ТРО ≥ 50 % и УПЖ ≥ 25 % для животных с солидной опухолью.

Эффективными считали дозы соединений, вызывающие ТРО ≥ 70 % продолжительностью не менее 7 дней после окончания лечения и УПЖ ≥ 25 % [15].

Статистический анализ данных проводили с использованием компьютерной программы STATISTICA 6.0. Различия между сравниваемыми группами считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Изученные производные N-гликозидов индолокарбазолов с разными заместителями R, углеводным остатком ксилозой представлены на рис. 2.

Результаты изучения противоопухолевой активности соединений из класса N-гликозидов индолокарбазолов с ксилозой на LLC мышей представлены в табл. 1.

Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что из 8 изученных производных N-гликозидов индолокарбазолов с разными заместителями в положении R (см. рис. 2) соединение 4 с ароматическим ядром в заместителе проявило противоопухолевый

эффект — ТРО составило 62 % непосредственно после окончания лечения и сохранялось на уровне ТРО = 51 % ($p < 0,05$ по отношению к контролю) до 12-го дня наблюдения. Соединения 1, 2 и 3 с заместителями Н, NH_2 и NHCHO соответственно оказались неактивны.

Присутствие в заместителе R карбонильной группы при ароматическом кольце в соединении 5 по сравнению с соединением 4 усилило противоопухолевый эффект только в 1-й день после окончания лечения. ТРО составило 71 %.

Введение в ароматическое ядро соединения 4 атома азота в положения пара- (соединение 6), орто- (соединение 8), мета- (соединение 7) по отношению к карбонильной группе по-разному повлияло на противоопухолевый эффект.

Соединение 8 с азотом в положении орто- ароматического ядра проявило противоопухолевый эффект в виде ТРО = 75–62 % ($p < 0,05$ по отношению к контролю), который сохранялся до 27-го дня после окончания лечения. При этом УПЖ составило 33 %.

Соединения 6 и 7 с азотом в положении пара- или мета- в ароматическом ядре заместителя соответственно не проявили противоопухолевого эффекта (ТРО = 48 и 55 % в 1-й день наблюдения).

Таким образом, из 8 соединений, представленных в табл. 1 и исследованных на модели рака легкого LLC, интерес вызывают только производные 4 и 8.

Далее синтезированные производные из класса N-гликозидов индолокарбазолов с углеводным остатком ксилозой исследовали на модели рака толстой кишки Акатол (табл. 2). Соединение 1 с Н в заместителе проявило невысокий, но продолжительный противоопухолевый эффект в течение 19 дней (ТРО = 62–51 %). Производное 2, с аминогруппой в заместителе,

показало кратковременный эффект до 4-го дня наблюдения (ТРО = 52–67 %).

Присутствие ароматического ядра в заместителе у производного 4 оказало минимальный эффект с ТРО = 51–50 % до 12-го дня после окончания лечения.

Соединение 6 с азотом в ароматическом ядре в положении пара- не показало противоопухолевого эффекта, тогда как соединение 8 с азотом в положении орто- показало высокий противоопухолевый эффект с ТРО = 90–62 % до 26-го дня наблюдения по окончании лечения.

Таким образом, стойкий продолжительный противоопухолевый эффект при исследовании производных с разными заместителями при малеимидном атоме азота на модели рака толстой кишки Акатол получили у производного 8 с азотом в положении орто- ароматического ядра по отношению к карбонильной группе (см. рис. 2, R).

На модели плоскоклеточного рака шейки матки РШМ-5 производные исследовали при внутрибрюшинном введении в той же дозе и режиме (табл. 3).

Четыре из 8 синтезированных соединений, исследованных на РШМ-5, проявили противоопухолевый эффект, который различался по силе и продолжительности. Производные 4 и 8 показали высокий длительный противоопухолевый эффект с ТРО = 68–82 % и ТРО = 80–72 % до 19-го и 26-го дня наблюдения после окончания лечения соответственно. По-видимому, опухолевая модель РШМ-5 оказалась наиболее чувствительной для группы производных с углеводным остатком ксилозой.

На перевиваемой аденокарциноме молочной железы Са-755 исследовали 4 соединения (табл. 4).

Изученные на этой модели производные проявили противоопухолевый эффект разной степени активности с сохранением его от 4 до 19 дней после

Таблица 2. Противоопухолевая активность соединений из класса N-гликозидов индолокарбазолов с ксилозой при внутрибрюшинном введении на Акатол

Table 2. Antitumor activity of compounds from the N-glycosides class of indolocarbazoles with xylose during intraperitoneal administration on Acatol

Соединения Compound	ТРО, % TGI, %								УПЖ, % ILS, %	Гибель от токсичности, % случаев Toxicity death, %
	Дни после окончания лечения Days after treatment									
	1	4	8	12	15–16	19–20	22	26		
1	62	24	50	47	56	51	39	27	0	0
2	52	67	44	44	32	29	—	—	0	0
4	51	69	56	50	46	44	40	—	0	17
6	35	37	52	47	52	49	46	—	0	0
8	90	87	82	75	76	73	72	62	0	0

Таблица 3. Противоопухолевая активность соединений из класса N-гликозидов индокарбазолов с ксилозой при внутрибрюшинном введении на РШМ-5

Table 3. Antitumor activity of compounds from the class of N-glycosides of indolocarbazoles with xylose during intraperitoneal administration on RSHM-5

Соединения Compound	ТРО, % TGI, %							УПЖ, % ILS, %	Гибель от токсичности, % случаев Toxicity death, %
	Дни после окончания лечения Days after treatment								
	1	4	8	12	15–16	19–22	26		
1	53	67	55	60	58	56	41	0	0
2	60	63	64	56	49	36	30	0	29
4	68	58	77	86	84	82	—	0	0
8	80	73	84	86	81	79	72	—	0

Таблица 4. Противоопухолевая активность соединений из класса N-гликозидов индокарбазолов с ксилозой при внутрибрюшинном введении на Са-755

Table 4. Antitumor activity of compounds from the N-glycosides class of indolocarbazoles with xylose during intraperitoneal administration on CA-755

Соединения Compound	ТРО, % TGI, %						УПЖ, % ILS, %	Гибель от токсичности, % случаев Toxicity death, %
	Дни после окончания лечения Days after treatment							
	1	4	8	12	15–16	19		
1	85	86	56	16	26		0	0
2	58	61	43	39	26	37	8	0
4	26	57	47	41	62	62	0	0
8	86	82	78	85	75	68	21	0

окончания лечения. Соединение 1 проявило высокий противоопухолевый эффект на уровне 85–56 % ТРО продолжительностью до 8-го дня, а соединение 2 — невысокий кратковременный эффект с ТРО = 58–61 % до 4-го дня наблюдения. Производное 4 с ароматическим ядром в заместителе проявило непосредственный эффект на уровне 26 % ТРО в 1-й день после окончания лечения, с последующим увеличением ТРО до 62 % на 19-й день наблюдения. Высокий противоопухолевый эффект выявлен после применения производного 8 с азотом в положении орто- ароматического ядра заместителя: ТРО = 86–68 % до 19-го дня наблюдения.

Опухолевая модель рака молочной железы Са-755, так же как и РШМ-5, оказалась чувствительной для этих производных.

Заключение

Проведено исследование по изучению и оценке противоопухолевой активности 8 производных N-гликозидов индо[2,3-а]карбазолов с разными заместителями при малеимидном атоме азота и с углеводным остатком ксилозой, синтезированных в лаборатории химического синтеза НИИ ЭДИТО ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Исследование проводилось на 4 солидных моделях опухолевого роста мышей: LLC, Акатол, РШМ-5 и Са-755. Соединения с разными заместителями показали эффект разной степени активности на всех 4 представленных моделях опухолевого роста.

Изученные производные N-гликозидов индо[2,3-а]карбазолов с углеводным остатком ксилозой,

независимо от заместителя при малеимидном атоме азота, показали противоопухолевую активность на гормоночувствительных опухолевых моделях РШМ-5 (с высокой дифференцированностью и медленным ростом) и Ca-755 (наиболее чувствительная из опухолевых моделей к химиотерапевтическим препаратам с разными механизмами действия).

Среди исследованных новых соединений выявлены производные 4 и 8, показавшие высокую противоопухолевую активность с продолжительностью эффекта от 12 дней наблюдения и более.

Для дальнейшего исследования выбрали производное 8 с азотом в положении орто-ароматического ядра заместителя.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sánchez C., Méndez C., Salas J.A. Indolocarbazole natural products: occurrence, biosynthesis, and biological activity. *Nat Prod Rep* 2006;23:1007–45. DOI: 10.1039/b601930g.
2. Bashir M., Bano A., Ijaz A.S., Chaudhary B.A. Recent developments and biological activities of n-substituted carbazole derivatives: A review. *Molecules* 2015;20(8):13496–517. DOI: 10.3390/molecules200813496.
3. Киселева М.П., Покровский В.С., Татарский В.В. и др. Производные индолокарбазолов — перспективный класс противоопухолевых препаратов. *Российский биотерапевтический журнал* 2018;17(4):20–26. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-20-26 [Kiseleva M.P., Pokrovsky V.S., Tatarskiy V.V. et al. Indolocarbazole derivatives — a promising class of anti-cancer drugs. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2018;17(4):20–26. (In Russ.)].
4. Saif M.W., Diasio R.B. Edotecarin: a novel topoisomerase I inhibitor. *Clin Colorectal Cancer* 2005;5(1):27–36. DOI: 10.3816/cc.2005.n.014. PMID: 15929804.
5. Yamada Y., Tamura T., Yamamoto N. et al. Phase I and pharmacokinetic study of edotecarin, a novel topoisomerase I inhibitor, administered once every 3 weeks in patients with solid tumors. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2006;58(2):173–82. DOI: 10.1007/s00280-005-0149-6.
6. Nock C.J., Brell J.M., Bokar J.A. et al. A phase I study of rebeccamycin analog in combination with oxaliplatin in patients with refractory solid tumors. *Investigational New Drugs* 2011;29(1):126–30. DOI: 10.1007/s10637-009-9322-9.
7. Голубева И.С., Яворская Н.П., Эктова Л.В. и др. Сравнение противоопухолевой активности производных индолокарбазола с углеводными остатками галактозой, арабинозой и заместителями по имидному атому азота. *Российский биотерапевтический журнал* 2017;16(s1):23. [Golubeva I.S., Yavorskaya N.P., Ektova L.V. et al. Comparison of the anti-tumor activity of indolocarbazole derivatives with carbohydrate residues galactose, arabinose and substituents on the imide nitrogen atom. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2017;16(S1):23. (In Russ.)].
8. Prudhomme M. Biological targets of antitumor indolocarbazoles bearing a sugar moiety. *Current Medicinal Chemistry — Anti-Cancer Agents* 2004;4(6):509–21. DOI: 10.2174/1568011043352650.
9. Civenni G., Longoni N., Costales P. et al. EC-70124, a novel glycosylated indolocarbazole multikinase inhibitor, reverts tumorigenic and stem cell properties in prostate cancer by inhibiting STAT3 and NF-κB. *Molecular Cancer Therapeutics* 2016;15(5):806–18. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0791.
10. Киселева М.П., Покровский В.С., Борисова Л.М. и др. Влияние химической структуры производных N-гликозидов индоло[2,3-A]пирроло[3,4-C]карбазолов на противоопухолевую активность. *Российский биотерапевтический журнал* 2019;18(2):32–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-2-32-39. [Kiseleva M.P., Pokrovsky V.S., Borisova L.M. et al. N-glycosidesindolo[2,3,-a]pyrrolo[3,4,-c]carbazole derivatives chemical structure influence on antitumor activity. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2019;18(2):32–39. (In Russ.)].
11. Sánchez C., Méndez C., Salas J.A. Engineering biosynthetic pathways to generate antitumor indolocarbazole derivatives. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2006;33(7):560–8. DOI: 10.1007/s10295-006-0092-5.
12. Zhang G., Shen J., Cheng H. et al. Syntheses and biological activities of rebeccamycin analogues with uncommon sugars. *J Med Chem* 2005;48(7):2600–11. DOI: 10.1021/jm0493764.
13. Moreau P., Holbeck S., Prudhomme M., Sausville E.A. Cytotoxicities of three rebeccamycin derivatives in the National Cancer Institute screening of 60 human tumor cell lines. *Anti-Cancer Drugs* 2005;16(2):145–50. DOI: 10.1097/00001813-200502000-00005.
14. Голубева И.С., Еремина В.А., Моисеева Н.И. и др. Производное класса Т-гликозидов индоло[2,3-а]-пирроло[3,4-с]карбазол-5,7-дионов-N-{12-(β-D-ксилопиранозол)-5,7-диоксо}индоло[2,3-а]-пирроло[3,4-с]карбазол-6-ил}пиридин-2-карбоксамид. Патент RU 2667906 от 25.09.2018 г. [Golubeva I.S., Eremina V.A., Moiseeva N.I. et al. A derivative of the class of T-glycosides of indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione-N-{12-(β-D-xylopyranosole)-5,7-dioxo}indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazol-6-yl}pyridin-2-carboxamide. RU patent 2667906, 25.09.2018 (In Russ.)].
15. Kaluzhny D.N., Tatarskiy Jr. 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. DOI: 10.1002/cmdc.200900227.
16. Ланцова А.В., Санарова Е.В., Оборотова Н.А. и др. Разработка технологии получения инъекционной лекарственной формы на основе отечественной субстанции производной индолокарбазола — ЛХС-1208. *Российский биотерапевтический журнал* 2014;13(3):25–32. [Lantsova A.V., Sanarova K.V., Oborotova N.A. et al. Development of technology for injectable dosage form based on the national substance from the class of indolocarbazoles. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2014;13(3):25–32. (In Russ.)].
17. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. В кн.: *Руководство*

- по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К., 2012. С. 642–57. [Treschalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K. et al. Methodical recommendations for the preclinical study of the antitumor activity of drugs. In: Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Moscow: Grif i K., 2012. Pp. 642–57 (In Russ.)].
18. Трещалина Е.М., Андропова Н.В., Гарин А.М. Доклиническое изучение противоопухолевых препаратов. В кн.: Рациональная фармакотерапия. М.: Литтерра, 2015. С. 75–82. [Treschalina E.M., Andronova N.V., Garin A.M. Preclinical study of antitumor drugs. In: Rational pharmacotherapy. Moscow: Litterra, 2015. Pp. 75–82 (In Russ.)].
 19. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. Под ред. З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина (СССР), А. Голдина, А. Кляйна (США). М.: Медицина, 1980. 295 с. [Experimental evaluation of antitumor drugs in the USSR and the USA. Ed. Z.P. Sofina, A.B. Syrkin (USSR), A. Goldin, A. Klein (USA). Moscow: Medicine, 1980. 296 p. (In Russ.)].
 20. Chabner B.A., Longo D.L. Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice. 3rd ed., Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001. Pp. 678–90.

Вклад авторов

И.С. Голубева, Н.П. Яворская, Л.М. Борисова: дизайн исследования, проведение экспериментов и анализ данных, написание и редактирование статьи;

Л.В. Эктова, В.А. Еремина, Н.И. Тихонова, Р.Б. Пугачева: синтез исследуемых соединений, обзор публикаций, написание статьи; М.В. Дмитриева: приготовление моделей лекарственной формы исследуемых соединений, подготовка статьи к публикации.

Authors' contributions

I.S. Golubeva, N.P. Yavorskaya, L.M. Borisova: research design, receiving and analyzing data, conduction of the research and analyzing data, writing and editing of the manuscript;

L.V. Ektova, V.A. Eremina, N.I. Tikhonova, R.B. Pugacheva: synthesis of the studied compounds, review of publications, writing of the manuscript; M.V. Dmitrieva: preparation of models of the dosage form of the studied compounds, preparation of the manuscript for publication.

ORCID авторов/ORCID of authors

И.С. Голубева/I.S. Golubeva: <https://orcid.org/0000-0002-7263-7444>

Н.П. Яворская/N.P. Yavorskaya: <https://orcid.org/0000-0003-3147-5917>

Л.В. Эктова/L.V. Ektova: <https://orcid.org/0000-0002-3987-6072>

М.В. Дмитриева/M.V. Dmitrieva: <https://orcid.org/0000-0001-6740-5692>

Л.М. Борисова/L.M. Borisova: <https://orcid.org/0000-0001-6554-1949>

В.А. Ерёмина/V.A. Eremina: <https://orcid.org/0000-0002-7457-3659>

Н.И. Тихонова/N.I. Tikhonova: <https://orcid.org/0000-0003-0043-3503>

Р.Б. Пугачева/R.B. Pugacheva: <https://orcid.org/0000-0003-2640-935X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено в рамках НИР № AAAA-A20-120031190013-9 «Фармацевтическая разработка и доклинические исследования оригинальных инновационных лекарственных средств с улучшенным профилем безопасности для лечения злокачественных новообразований».

Financing. The study was performed in the framework research work № AAAA-A20-120031190013-9 “Pharmaceutical development and preclinical research of original innovative medicines with an improved safety profile for the treatment of malignant neoplasms”.

Соблюдение правил биоэтики. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Compliance with the rules of bioethics. The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation. The study was performed in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the protection of vertebrates used for research and other scientific purposes.

Статья поступила: 15.06.2020. Принята к публикации: 22.10.2020.

Article submitted: 15.06.2020. Accepted for publication: 22.10.2020.